



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Institutionen för energi och teknik

Optimerad hygienisering vid kompostering av avloppsslam

*Optimized sanitation from composting of sewage
sludge*

Linda Dunder

Biologi- och miljövetenskap

Institutionen för energi och teknik
Department of Energy and Technology

Examensarbete 2013:04
ISSN 1654-9392
Uppsala 2013

SLU, Sveriges lantbruksuniversitet
SUAS, Swedish University of Agricultural Sciences
Institutionen för energi och teknik
Department of Energy and technology

Optimerad hygienisering vid kompostering av avloppsslam

Optimized sanitation from composting of sewage sludge

Författare: Linda Dunder

Handledare: Annika Nordin, institutionen för energi och teknik, SLU
Examinator: Björn Vinnerås, institutionen för energi och teknik, SLU
Antal HP: 15 hp
Kurstitel: Självständigt arbete i miljövetenskap - kandidatarbete
Kurskod: EX0688
Program: Biologi och miljövetenskap – kandidatprogram 180 hp
Seriens namn: Examensarbete: 2013:04
ISSN 1654-9392

Uppsala 2013

Nyckelord: Avloppsslam, kompostering, hygienisering, kretslopp, näringsåterföring, patogener, urea, ammoniak

Inledning till självständigt arbete i miljövetenskap – kandidatarbete

Detta självständiga arbete om 15 hp är ett kandidatarbete som leder till en kandidatexamen inom miljövetenskap. Arbetet har dels utförts för Sveriges Lantbruksuniversitet på institutionen för Energi och teknik dels på Sveriges veterinärmedicinska anstalt, där det laborativa arbetet ägt rum. Målet med arbetet är att optimera hygieniseringen vid kompostering av avloppsslam med tre tillsatser, urea, ECOX och strukturmateriäl i två olika nivåer, nämligen med eller utan.

Sammanfattning

Syftet med denna studie har varit att genom laborativa försök undersöka möjligheten att med tillsatts av urea, ECOX och strukturmaterial optimera hygienisering vid kompostering av avloppsslam. Vi strävar idag efter ett hållbart samhälle och det är viktigt att ur miljö- och resurssynpunkt sluta kretsloppscirkeln. Det blir därför allt mer viktigt att på ett säkert sätt återföra växtnäringen från avlopp till jordbruksmark. Dels för att det ökar hållbarheten i samhället eftersom att världens förråd av många näringsämnen är ändliga, dels för att det främjar människors hälsa, både genom att minska smittspridning och genom att öka jordbruksproduktionen.

En outnyttjad resurs som avloppsslam vilken är rik på växtnäringsämnen och mullbildande material skulle kunna ersätta stora delar av det mineralgödsel som används i Sverige idag. Avloppsslam innehåller dock oönskade ämnen som tungmetaller och läkemedelsrester och sjukdomsframkallande mikroorganismer. För att säkerställa en säker återföring måste avloppsslammet därför hygieniseras på något sätt. De vanligaste hygieniserande behandlingar som används idag är bland andra pastörisering, kompostering och tillsatser av kalk. Eftersom att dessa kan vara svårtillämpbara på grund av ekonomiska eller arbetsmiljömässiga skäl så försöker man idag utveckla fler metoder för hygienisering. En relativt ny metod som utvecklats vid Sveriges Lantbruksuniversitet är ammoniakbehandling.

Tidigare studier har visat att en effektiv avdödning av mikroorganismer kan erhållas med ammoniakhygienisering och att en högre temperatur ger ökad effekt av ammoniaken. Då högt pH råder befinner sig den största delen av ammoniaken i sin oladdade form NH_3 , som är den form som är skadlig för de flesta biologiska organismer. Vid ett lägre pH befinner sig däremot ammoniaken i sin laddade form, NH_4^+ som är ett växttillgängligt näringsämne. I denna studie tillsattes ammoniak i form av urea som är ett vanligt gödselmedel. Då urea tillsätts till slammet bryts det ner till ammoniak och karbonater med hjälp av enzymet ureas.

I denna studie komposterades avloppsslam i två omgångar. Till avloppsslammet tillsattes olika kombinationer av ECOX, urea och strukturmaterial i ett försök att hitta en optimal hygieniseringsmetod. Analyser utfördes under dag 2, 6, 10, 16 och 20. Den mest effektiva avdödningen av mikroorganismer erhöles för de behandlingar som innefattat både ECOX, urea och strukturmaterial, där 6 \log_{10} reduktion totala termotoleranta koliforma bakterier erhöles efter 2 dagar. Studien visade också att de högsta komposteringstemperaturerna erhöles för de kombinationer som innefattat ECOX. Kombinationen av ECOX och urea visade sig också ge ett högt pH-värde.

Nyckelord: Avloppsslam, kompostering, hygienisering, kretslopp, näringsåterföring, patogener, urea, ammoniak

Abstract

The aim of this study was to in laboratory experiments investigate how addition of urea, ECOX and structural materials can optimize sanitization during composting of sewage sludge. Today we strive for a sustainable society and the importance of closing the nutrient loop increases. It has therefore become even more important to safely reuse plant nutrients from human excreta to agricultural land. Partly because it increases the sustainability of society as the world's supply of many nutrients are finite, partly because it promotes human health, both by reducing disease transmission and by increasing agricultural production.

An untapped resource such as sewage sludge that is rich in nutrients and humus-forming materials could replace parts of the commercial fertilizers used in Sweden today. However, sewage sludge contains undesirable substances such as heavy metals and drug residues, and pathogenic microorganisms. Sewage sludge must therefore be sanitized to ensure a safe reuse of the plant nutrients. The most common sanitizing treatments used today include pasteurization, composting and additions of lime. Since these methods may be difficult to implement because of economic or environmental reasons, new methods of sanitation are developing today. A relatively new method developed at the Swedish University of Agricultural Sciences is ammonia treatment.

Previous studies have shown that an effective reduction of microorganisms was obtained with ammonia treatment and that the effect from the ammonia increases with an increased temperature. At higher pH the major part of the ammonia is in its uncharged form, NH_3 , which is harmful for most biological organisms. At a lower pH, in contrast, the ammonia is in its charged state, NH_4^+ , which is readily available as plant nutrient. Urea is a common fertilizer and when it is added to the sludge it breaks down into ammonia and carbonates by means of the enzyme urease.

The sewage sludge was composted in two periods in this study. Various combinations of ECOX, urea and structural material were added to the sewage sludge in an attempt to find an optimal sanitization method. Samples were analyzed on day 0,2,6,10,16 and 20. The most effective reduction of microorganisms was obtained for the treatments that included ECOX, urea and structural materials, where a reduction of 6 \log_{10} for thermo tolerant coliform bacteria was obtained after 2 days. The study also shows that the highest composting temperatures were obtained for the combinations that included ECOX. The combination of ECOX and urea was also found to provide a high pH

Keywords: Sewage sludge, composting, sanitation, nutrients, recycling, pathogens, urea, ammonia

Förord

Jag vill tacka SLU och institutionen för Energi och teknik för möjligheten att ha fått genomföra mitt examensarbete. Jag vill även tacka personalen på SVA för all hjälp under det laborativa arbetet.

Jag vill också rikta ett extra stort tack till min handledare Annika Nordin på institutionen för Energi och teknik för bra och givande dialog under arbetets gång och tack också för bra feedback som bidragit till att göra studien och uppsatsen bättre.

Innehållsförteckning

Tabellförteckning	5
Figurförteckning	6
Förord	4
Förkortningar och definitioner	10
1 Inledning	11
2 Mål och omfattning	13
2.1 Syfte och mål	13
2.1.1 Frågeställningar	13
2.1.2 Hypoteser	13
2.2 Avgränsning	13
3 Bakgrund	14
3.1 Avloppsslam som gödselmedel	14
3.2 Hygienisering av slam	14
3.2.1 Urea/ammoniakbehandling	15
3.3 Kompostering	16
3.3.1 Syrebehov	17
3.4 Modellorganismer	18
3.4.1 Totala termotoleranta koliforma (TTK) bakterier	18
3.4.2 Enterokocker	19
3.4.3 Bakteriofager	19
4 Material och metod	20
4.1 Försöksupplägg	20
4.2 Provtagning	21
4.3 Fysikaliska analyser	22
4.3.1 Torrsubstans	22
Glödgningsförlust	22
4.3.2 Glödgningsförlust	22
4.4 Kemiska analyser	22
4.4.1 pH	22
4.4.2 COD	23
4.4.3 Tot-N	23
4.4.4 TAN	23
4.5 Mikrobiologiska analyser	23
4.5.1 Enterokocker	24
4.5.2 Totala termotoleranta koliforma bakterier	24
4.5.3 Somatiska och f-RNA kolifager	24

5	Resultat	25
5.1	Kemiska analyser	26
5.2	Mikrobiologiska analyser	30
6	Diskussion	35
6.1	Hygienisering	35
6.2	pH	35
7	Slutsats	37
8	Källförteckning	38

Tabellförteckning

Tabell 1. Innehåll i de olika behandlingarna i de båda komposteringsperioderna.	21
Tabell 2. Medelstartvärden för pH, TS, VS och COD och mikroorganismer i batch 1 respektive 2 med slam från Bromma reningsverk.	26
Tabell 3. Analysresultat för detektion av totala termotoleranta koliforma bakterier för 3 replikat från första batchen med slam. Vidare analys gav resultat om närvaro av E.coli.	31
Tabell 4. Analysresultat för detektion av totala termotoleranta koliforma bakterier för 3 replikat från andra batchen med slam. Vidare analys gav resultat om närvaro av E.coli.	31

Figurförteckning

<i>Figur 1.</i> Kretslopp för växtnäringsämnen i samhället idag. (Illustration: Björn Vinnerås, SLU)	11
<i>Figur 2.</i> Komposteringsprocessen. (Illustration: Ingela Jondell, Bioenergi Förlag, Stockholm)	17
<i>Figur 3.</i> Dewarkärl med kompostbehandlingarna stängda med frigolitlock omslutna med parafin.	20
<i>Figur 4.</i> Figuren till vänster visar strukturen på material utan strukturmateriäl, till höger visas struktur för materialet med strukturmateriäl.	21
<i>Figur 5.</i> Temperaturutveckling (°C) hos respektive behandling samt rumstemperaturen i laboratoriet över tid (dagar) under första komposteringsperioden.	25
<i>Figur 6.</i> Temperaturutveckling (°C) hos respektive behandling samt rumstemperaturen i laboratoriet över tid (dagar) under andra komposteringsperioden.	26
<i>Figur 7.</i> pH-värde över tid (dagar) för respektive behandling; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	27
<i>Figur 10.</i> MedelpH-värde över tid (dagar) för respektive behandling samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	27
<i>Figur 11.</i> Ammoniakkvävehalt (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	28
<i>Figur 12.</i> Ammoniakkvävehalt (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	28
<i>Figur 13.</i> Totalkväve (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	29
<i>Figur 14.</i> Totalkvävehalt (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	29
<i>Figur 15.</i> Koncentration av totala termotoleranta koliforma bakterier (CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar); medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	30
<i>Figur 16.</i> Koncentration av totala termotoleranta koliforma bakterier (\log_{10} CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar); medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	30
<i>Figur 17.</i> Koncentration av Enterokocker (CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar); medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	32
<i>Figur 18.</i> Koncentration av Enterokocker (\log_{10} CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar); medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.	32

Figur 19. Koncentration av Somatiska koliforma bakteriofager (CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar); medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

33

Figur 20. Koncentration av Somatiska koliforma bakteriofager (\log_{10} CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar); medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

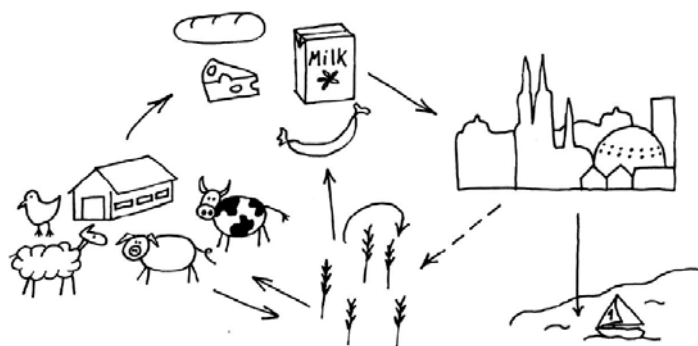
33

Förkortningar och definitioner

<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>E. faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
ECOX	Natriumkarbonatperoxihydrat ($2 \text{ Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}_2$)
TAN	Totalammoniumkväve
TS	Torrsubstans
VS	Glödgningsförlust
PFU	Plackbildande enheter
CFU	Kolonibildande enheter
Dr-värde	Decimal reduktions värde – den tid det tar för 1 \log_{10} reduktion av organismkoncentrationer vid en log-linjär reduktionstrend
Hygienisering	Inaktivering av mikroorganismer, ej total reduktion men till en nödvändig nivå för att inte äventyra människor- och djurs hälsa
Patogen	Sjukdomsframkallande organism

1 Inledning

Ett hållbart samhälle är något vi strävar efter idag och i och med det har kretsloppstänkandet uppmärksamrats i allt större grad. Utveckling sker för att kunna hushålla med naturresurser och reducera den miljöpåverkan vi människor orsakar, detta för att säkerställa framtiden för kommande generationer. Det är viktigt ur miljö- och resurssynpunkt att sluta kretsloppscirkeln och ett steg närmare det målet kommer vi om vi lyckas återföra växtnäringssämnen från vårt avfall och då speciellt från fekalier och urin (Andersson, et al., 2013).



Figur 1. Kretslopp för växtnäringssämnen i samhället idag. (Illustration: Henrietta Vinnerås)

Våra åkerjordar blir utarmade på näringsämnen och mineraler när vi skördar (Figur 1) och dessa förluster av näring måste på ett eller annat sätt ersättas, detta sker bland annat med mineralgödsel. Framställning av mineralgödsel förbrukar ändliga resurser av dels fossilt bränsle men även av fosfor-, kalium- och svaveltillgångar, vilket inte är hållbart varken ur miljö- eller resurssynpunkt. Det mesta av den näring vi får i oss via födan hamnar i avloppet via toalettavfallet och därför skulle näring från avlopp kunna ersätta stora delar av det mineralgödsel som används i Sverige idag (Vinnerås, 2001). I Sverige produceras stora mängder avloppsslam från våra allmänna avloppsreningsverk varje år, närmare en miljon kubikmeter, motsvarande ca 230 000 – 240 000 ton torrs substans (TS) (Svenskt Vatten, 2010). Avloppsslam är främst ett fosforgödselmedel då fosfor utgör cirka 3 procent av slammet (Naturvårdsverket, 2002), men innehåller även organiskt material, kväve och mikronäringsämnen. Detta är ännu en anledning till att man bör använda avloppsslam som gödselalternativ i Sverige i större utsträckning än vad som görs idag (Jönsson, et al., 2003).

Regeringen har antagit ett miljömål som säger att minst 60 % av fosfor från avlopp ska återföras till produktiv mark, varav hälften till åkermark, innan år 2015 (Regeringen, 2012). Under senare år har ca 25 % av avloppsslammet använts i jordbruket, vilket är för lite med tanke på slammets näringspotential (Ljunggren, 2013).

Den lagstiftning som finns för återföring av avloppsslam till våra åkrar är för gammal och inaktuell. Den är bristfällig vad det gäller miljö- och hälsoskydd (Ek, 2012). Lagstiftning för att säkerställa att slam av god kvalitet används kan öka acceptansen för slamspridning på åkermark. I april år 2010 redovisade Naturvårdsverket, enligt regeringsuppdrag, en uppdaterad "Aktionsplan för återföring av fosfor". Naturvårdsverket fick i samband med det i uppdrag av regeringen att göra en vidare kartläggning av all fosforresurser i samhället och hur man på bästa sätt skulle kunna återföra dessa. Ett nytt förslag kommer att läggas fram till regeringen i augusti i år, 2013. Det nya förslaget till en förordning för slamanvändning på mark kommer mest troligt att skärpa gränsvärden för metaller samt kräva hygienisering dvs. reduktion av sjukdomsalstrande mikroorganismer - patogener.

Alla typer av avfall måste behandlas på något sätt och då speciellt avloppsslam som innehåller oönskade substanser som tungmetaller, läkemedel samt patogener som kan ge upphov till sjukdomar hos människor och djur (Jönsson, et al., 2003). Ett flertal studier och ny forskning finns som visar att man idag inte kan påvisa några negativa miljöeffekter på grund av läkemedelsresterna som finns i slam. Kunskapen är dock begränsad idag vad gäller förekomsten av läkemedel i slammet och om växtupptag och exponering för människor och djur. I ett flertal studier har man dock bland annat upptäckt att man med hjälp av en vit hussvamp, *Trametes versicolor*, kan eliminera föroreningar, i då synnerhet läkemedel från avloppsslam (Rodriguez, 2012). En studie av Guerin (2001) har visat att man får en viss reduktion av läkemedel vid exempelvis mesofil och termofil kompostering av jord. Man skulle då kunna anta att samma reduktion sker i samband med mesofil och termofil kompostering av avloppsslam. Hygienisering kommer i framtiden att krävas för allt slam som sprids på mark. Ekonomiskt hållbara sätt att hygienisera avloppsslam, som alternativ till bland annat pastörisering, är av stort intresse för små och medelstora avloppsreningsverk.

2 Mål och omfattning

2.1 Syfte och mål

Målet med studien är att undersöka möjligheten att med tillsatts av urea, ECOX och strukturmaterial optimera hygienisering vid kompostering av avloppsslam.

2.1.1 Frågeställningar

Följande frågeställningar har legat till grund för studien:

- Ger ECOX och strukturmaterial en högre komposteringstemperatur?
- Hur påverkas temperaturen och hygieniseringen vid kompostering av avloppsslam vid tillsatser i kombinationer av ECOX, urea och strukturmaterial?
- Kan ECOX och strukturmaterial förbättra hygieniseringseffekten från urea?

2.1.2 Hypoteser

En hypotes för studien är att ECOX kommer att bidra till optimering av komposteringen och hygieniseringen genom att frigöra syre som möjliggör en högre komposteringstemperatur. Detta bidrar i sin tur till en mer effektiv hygienisering. Vidare även att strukturmaterialet också kommer att bidra till en högre komposteringstemperatur då materialet ger en mer lucker struktur med högre syretillgång.

2.2 Avgränsning

Arbetet behandlar kompostering med urea-, ECOX- och strukturmaterialtillsats, för hygienisering av avloppsslam vilken utvärderades genom analys av naturligt förekommande enterokocker, totala termotoleranta koliforma bakterier samt bakteriofager. Bakterien *Salmonella* har ej inkluderats i studien. Hygieniserande behandlingar bestod av 0,75 % urea, 6 % ECOX per våtvikt slam samt strukturmaterial i form av plastpipetter.

3 Bakgrund

3.1 Avloppsslam som gödselmedel

Avloppsslam bildas när avloppsvatten behandlas vid våra kommunala reningsverk och består av organiskt material och näringsämnen som fosfor, kväve, mikronäringsämnen och organiskt mullbildande material (Svenskt Vatten, 2010). Slammets kemiska, biologiska och fysikaliska egenskaper kan variera mycket beroende på materialets ursprung och hur det sedan har upparbetats i reningsverket. Förr betraktade man avloppsslammet som en oönskad biprodukt som man bara ville bli av med. Men i takt med att samhället blivit mer medvetna om hållbarhet och resursfrågor har också synen på användning av avloppsslammet förändrats. Idag ser man istället slammet som en betydande resurs (Svenskt vatten, 2013). Det finns otaliga åsikter och delade meningar huruvida man bör sprida slam för att få en näringsåterföring, många anser att det är en naturlig del av kretsloppssamhället medan andra är absolut mot spridning av slam på åkermark. De hygieniska risker som finns vid slamanvändning kan motverkas med hygienisering och användningsrestriktioner för slammet. Att ökad användning av slam kan leda till att ett miljömål uppnås kan också vara en faktor som gör att slamanvändningen blir mer accepterat i samhället.

3.2 Hygienisering av slam

Avloppsslammet innehåller cirka 10^{10} mikroorganismer per gram TS och vissa av dessa kan ge upphov till sjukdomar hos människor och djur (Lentner, et al., 1981). Därför måste avloppsslammet hygieniseras innan säker återföring till marken kan ske (Vinnerås, 2013). Hygienisering utförs för att avdöda eller reducera förekomsten av patogena, sjukdomsframkallande organismer i sådan grad att risker för människor, djur eller växter vid användning av det behandlade slammet minimeras. Ofta vill man även att hygieniseringen ska resultera i en stabil varaktig smittfri produkt som inte är känslig för återkontamination (Held, 2007). Det finns även annan problematik med användning av avloppsslam, nämligen förekomsten av läkemedelsrester och metaller. Det har dock visat sig att drygt 95 % av läkemedlen utsöndras via urinen just för att de är konstruerade att vara vattenlösliga. Både svenska och utländska studier visar att cirka 0,1-5 % av läkemedelsresterna kan återfinnas i slammet (Svenskt Vatten, 2009). Fler och fler studier visar att man idag inte kan påvisa några negativa miljöeffekter på grund av läkemedelsresterna som finns i slam. Samtidigt som kunskapen idag är begränsad vad gäller förekomsten av läkemedel i slammet samt även kunskap om växtupptag och exponering för människor och djur (Lantbrukarnas Riksförbund, 2012).

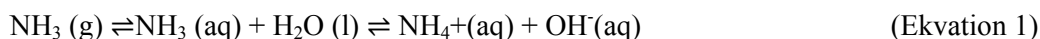
Hur effektiv hygieniseringen är kan bedömas utifrån hur många tiopotenser som en viss mikroorganism reducerats (Vinnerås, 2013). Allt som oftast är denna reduktion log-linjär och en behandlings decimalreduktionstid (Dr-värde), kan beräknas. Dr-värdet eller t_{90} motsvarar tiden det tar för en 90%-ig reduktion av en bestämd mikroorganism (Nordin, 2013). Förekomsten av mikroorganismer i slam anges ofta i tiopotens per g material. En hygienisering innebär en reduktion om 10^6 per ml/g material medan en reduktion om 10^{12} per ml/g material

istället räknas som en steriliseringsprocess. Vid säker återföring av växtnäring är det oftast tillräckligt med den reduktion som fås vid hygienisering (Vinnerås, 2013).

Hygienisering kan ske på många olika sätt och några av de vanligaste är termofil rötning, pastörisering, lagring, torkning, kemisk behandling, kompostering, kalktillsats och förbränning (Svenskt Vatten, 2010). Pastörisering är en konventionell och etablerad metod för hygienisering av slam, det är principiellt sett en relativt enkel process som innebär att materialet värms upp till en viss temperatur (under 100 °C) vid vilken sjukdomsalstrande mikroorganismer avdödas. Dock är det en kostsam metod då den kräver mycket energi och investeringar för anläggningen (Held, 2007). Detta betyder att det främst är stora reningsverk som har råd att ha denna process som ett hygieniseringsalternativ. De metoder som denna studie fokuserar på är kemisk behandling i form av urea/ammoniakbehandling i kombination med kompostering av slammet.

3.2.1 Urea/ammoniakbehandling

Ammoniakhygienisering är en metod som utvecklats vid SLU vilket visat att effektiv behandling på fast material fås vid inblandningar på omkring 0,5-1 vikt-% ammoniak och 2 vikt-% urea (Held, 2007). Vid behandling av avloppsslam med ren ammoniak eller ammoniak i form av urea fås en höjning av pH-nivån i och med att ammoniak är en svag bas. De flesta organismer trivs vid ett naturligt pH-värde på 6-8 och kan inaktiveras vid mer sura eller basiska miljöer (Lim, 1989). Oladdad ammoniak (NH_3) har en skadlig effekt på de flesta biologiska organismer, den laddade jonen (NH_4^+) är däremot en molekyl som växter tål i höga koncentrationer och ett värdefullt växtnäringsämne (Vinnerås, 2013). Det är önskvärt att ha så stor del av ammoniaken som oladdad NH_3 som möjligt då det ger maximerad hygieniseringseffekt (Vinnerås, 2013). Ett basiskt pH och förhöjd temperatur ger en förskjutning av $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ jämviktsläget mot NH_3 (Emerson, et al., 1975). Förhållandet mellan (NH_4^+) och (NH_3) visas i ekvation 1.



Behandling med ren ammoniaklösning är dock svårt och kan i praktiken vara farligt då explosionsrisk finns, därför används den metoden i liten utsträckning idag. Det vanliga är istället att behandla med urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) som är ett vanligt gödselmedel som tillsätts till materialet som granulat, urean bryts sedan ner till ammoniak (NH_3) och karbonater med hjälp av enzymet ureas (ekvation 2) som förekommer naturligt i alla organiska gödselmedel och däribland också i avloppsslam. Ammoniak, som är en svag bas höjer pH i lösningen och tillsammans med det karbonat som bildas buffrar det pH, som stabiliseras runt 9. Båda dessa föreningar bidrar till inaktivering av patogener i slammet (Park & Diez-Gonzalez, 2003; Vinnerås, et al., 2003; Ottoson, et al., 2008). Det är inte helt utrett hur mekanismen för inaktivering av mikroorganismer går till. En teori är att ammoniakmolekylen kan orsaka andra skador på bakterieceller antingen genom snabb alkalisering av cytoplasman eller genom att förändra laddningen på andra molekyler och på så sätt förstöra laddningen på cellmembranen (Ottoson, et al., 2008). En annan teori är att ammoniakmolekylen, eftersom att den är så liten, kan diffundera in i cellen och cytoplasman blir då basisk. Cellen kompenserar för detta genom att ta in protoner från utsidan på bekostnad av K^+ , bristen på K^+ , som är essentiellt för cellen, gör till slut att den dör (Nordin, 2010).



Eftersom ammoniaklösningen är så stark krävs ej lika stora mängder som när man behandlar med urea. En nackdel är dock att ammoniaklösningen är mer svårhanterlig på grund av dess höga koncentration. Fördelen med ureabehandling är också att det tar en stund för urean att brytas ner till ammoniak. Man kan därför lufta i större grad utan att få stora förluster av ammoniak. Luftningen är fördelaktig då den leder till bättre kompostering och därmed högre temperatur som krävs för hygieniseringen (Nordin, 2013). Det finns en positiv korrelation mellan temperatur och ammoniakhygienisering, ju högre temperatur desto mer effektiv blir hygieniseringen.

Urea-och ammoniakhygienisering liknar lagring på det sättet att avloppsslammet ej bryts ner under processen, därmed fås inga förluster av varken organiskt material eller kväve. Fördelen med denna metod är att behandlingen inte konsumerar någon ammoniak i sig. Ammoniaken inaktiverar patogenerna under behandlingen och finns sedan kvar efteråt, därför kan ammoniaken återanvändas som gödselmedel efter avslutat behandling. Så det man investerat i behandlingen återfås efter behandling i ökat gödselvärde (Vinnerås, et al., 2008). Dock måste behandlingen ske i förslutna tankar eller i täckta behållare för att undvika ammoniakförluster från slammet som har en hög ammoniakkoncentration, speciellt vid hantering av ammoniaklösning (Nordin, 2010).

3.3 Kompostering

Kompostering har länge använts som en metod för att omvandla nedbrytbart organiskt material till en mer stabil produkt som kan användas som jordförbättrare och gödselmedel i jordbruket. På senare år har intresset ökat för kompostering av avloppsslam och idag finns ett flertal effektiva komposteringsmetoder. Kompostering är en spontan nedbrytningsprocess i naturen, som exempelvis nedbrytning av löv eller av kogödsel. Mikroorganismer som bakterier och svampar bryter ner organiskt material och det bildas koldioxid, vatten och energi (figur 2). Kompostering är en biologisk oxidation vilket betyder att syre är essentiellt för processen (de Bertoldi, et al., 1983). Termofil kompostering som helhet kan också beskrivas enligt följande;

”Biologisk nedbrytning och stabilisering av organiskt material under förhållanden som tillåter utveckling av termofila temperaturer som ett resultat av biologisk aktivitet, med en slutgiltig produkt fri från patogener och tillräckligt stabil för att lagras och för att kunna spridas på mark utan att påverka miljön negativt” (Haug, 1993).



Figur 2. Komposteringsprocessen. (Illustration: Ingela Jondell, Bioenergi Förlag, Stockholm)

Kompostering är ingen hygieniseringsmetod i sig, däremot så har den temperaturökning som fås under en kompostering en hygieniserande effekt (WHO, 2006). Värmen stressar mikroorganismerna och vid tillräckligt hög temperatur blir proteinerna denaturerade; proteinets egenskaper förändras och slutar fungera. Om värmen inte är hög nog så fås en reversibel inaktivering av mikroorganismerna. Den rekommenderade temperaturen för kompostering är därför minst 50-55 °C för att få en effektiv inaktivering av patogener (Vinnerås, et al., 2008). En hög temperatur under en kortare period kan ha samma effekt på hygieniseringen som en lägre temperatur under en längre period (Haug, 1993). Efter en termofil fas kan det vara fördelaktigt att temperaturen sjunker för att gynna tillväxt av eumyceter och actinomyceter som är de främsta svamparna som bryter ner långkedjade polymerer, cellulosa och lignin (de Bertoldi, et al., 1983). Vid all värmebehandling, krävs det att mer värme tillförs än den värme som förloras från systemet. För att minska mängden förlorad värme bör materialet isoleras, antingen i en reaktor med isolerade väggar eller i en öppen komposteringsprocess där en del av slammet får verka som isoleringsmaterial. (Vinnerås, 2013).

Kompostering tillämpas fördelaktigast vid storskaliga behandlingar som kan övervakas noggrant. Det krävs kontinuerlig temperaturmätning samt omrörning av materialet för att säkerställa att alla delar av en kompost genomgått nödvändig värmebehandling. Om kompostering sköts på rätt sätt kan processen ge en hygieniskt säker produkt som kan fördelaktigen kan användas i jordbruket (Held, 2007).

3.3.1 Syrebehov

För avloppsslam krävs det tillsats av strukturmateriel och man använder oftast flis för att erhålla god luftning av materialet. Denna luftning möjliggör kompostering som ger upphov till en termofil temperatur vilket är fördelaktigt då detta kan bidra till en ökad hygienisering av kompostmaterialet (Svenskt Vatten, 2010).

Den mest vanliga metoden för att mäta ett materials nedbrytbarhet för aerobiska system är att mäta syrekonsumtion. Detta kan göras genom att mäta chemical oxygen demand (COD) som uppskattar hur mycket syre som krävs för att bryta ned materialet fullständigt. Ett materials glödningsförlust, VS (eng. volatile solids) är en fraktion av TS och ett mått på halten nedbrytbart material och kan användas för att räkna ut ett materials syrebehov (Haug, 1993).

ECOX ($2 \text{ Na}_2\text{CO}_3 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}_2$) är en kemikalie som ingår i många miljömärkta tvätt- och diskmedel och är ett miljöanpassat blekmedel. Den är transparent, kristallin och vattenlös. Efter användandet av ECOX så bryts den snabbt ner till sina naturliga beståndsdelar, nämligen, syre, vatten och soda som alla också förekommer i naturen (Kemira). På grund av detta är riskerna för vattenmiljön begränsade. Den kemiska nedbrytningen för ECOX sker i ett antal olika steg, den bryts först ner till natriumkarbonat och väteperoxid som sedan neutraliseras till koldioxid, bikarbonat, karbonat och slutligen till vatten och syre (Kemira, 2010). ECOX kostar cirka 9000 kr/ton, vilket är relativt kostsamt om man jämför med urea och ammoniak (Hansen, 2013).

3.4 Modellorganismer

Det är inte ekonomiskt möjligt att analysera förekomsten av samtliga mikroorganismer som återfinns i avloppsslam, istället analyseras så kallade modellorganismer. Modellorganismer är bakterier eller virus som har egenskaper som liknar de patogener man vill reducera. Som oftast är modellorganismen en variant inom samma organismgrupp, familj eller släkte. Exempelvis så används bakteriofager, virus som infekterar bakterier, som modellorganism för vissa virus som infekterar människor eller djur. För fekalier tillhör de vanligaste indikatororganismerna underarter av *Enterococcus* och bakterier av familjen *Enterobacteriaceae*, där arterna *Salmonella* och *E.coli* ingår. För att se hur effektiv en hygienisering är och för att förstå dess effekt så räknar man bakteriekolonier innan, under och efter avslutad hygienisering (Nordin, 2010). I Sverige är man speciellt noggrann med salmonella som är en organism man inte vill föra tillbaka till lantbruket. I denna studie testas dessvärre ej salmonella på grund av begränsad tidsram för projektet. De bakterier som analyserades i denna studie var totala termotoleranta koliforma bakterier (TTK), enterokocker och somatiska kolifager.

3.4.1 Totala termotoleranta koliforma (TTK) bakterier

Den koliforma gruppen av bakterier innefattar dels de aeroba bakterierna, de fakultativt anaeroba, gramnegativa samt icke sporbildande bakterier som förjäser laktos och bildar syra och gas (Lim, 1989). Koliforma bakterier återfinns på de flesta ställen i naturen och många arter av dem finns även i tarmen hos oss människor, varav termotoleranta koliforma bakterier är de som kan odlas vid 44 °C och som i huvudsak utgörs av *E. coli*. Om vatten förorenats så kan det vara så att där finns TTK bakterier och då huvudsakligen tarmbakterien *E.coli*, gränsvärdena är mycket strängare för dessa än för koliforma bakterier (Johansson, 2013). *E. coli* är en gramnegativ, stavformig bakterie som växer i tarmen på människor och djur så om denna bakterie kan påvisas anses fekal förorening påvisad. Den ofarliga typen av *E. coli* är en del av normalfloran i tarmen men det finns idag flera andra olika typer av denna bakterie som kan orsaka infektioner och sjukdomar (Smittskyddsinstitutet, 2010).

Violettrött-gallagar (VRG-agar) är ett selektivt medium som används för att påvisa och räkna koliforma bakterier i exempelvis vatten och mjölk. Gramnegativa bakterier gynnas på denna agar och de grampositiva undertrycks. Koliforma bakterier förjäser som sagt laktos och de bildar lila-rosa kolonier på VRG-plattan, ofta bildas också lila kanter och det är för att gallsalter faller ut när pH sänks. Icke-laktos jäsande bakterier bildar bleka kolonier med gröna zoner. Andra liknande gramnegativa bakterier kan förvisso växa på denna agarplatta men dessa dör

då man inkuberar vid temperaturer över 42 °C. Selektiviteten hos detta medium minskar efter 24 timmar och de bakterier som tidigare undertryckts kan då börja växa på plattan (NMKL, 1996).

3.4.2 Enterokocker

Enterokocker återfinns huvudsakligen i människor och djurs magtarmkanal. De är grampositiva, katalasnegativa, fakultativt anaerobiska kocker som oftast växer i par eller i korta kedjor men förekommer även ensamma (Johansson, 2013). De kan orsaka sjukdomar så som urinvägsinfektioner, sårinfektioner och blodförgiftning. Enterokocker har en förmåga att utveckla resistens mot alla kända antibiotika och de är även naturligt resistenta mot en rad olika vanliga antibiotika (Smittskyddsinstitutet, 2011). De är också toleranta mot ett brett spektrum av miljöförhållanden som extrema temperaturer (10-45 °C) ett stort pH intervall (4,5-10,0) och höga saltkoncentrationer (Vinnerås, 2013). Två arter av enterokocker är vanliga i tarmen hos oss människor, nämligen *Enterococcus faecalis* och *Enterococcus faecium*. Enterokocker detekteras med Slanetzy Bartley Agar (SlaBa). Enterokocker bildar oftast mörkröda kolonier på SlaBa plattan men de kan producera kolonier med färger allt från rosa till mörkröd (Smittskyddsinstitutet, 2011). När bakterier växer på plattan reduceras ämnet trifenyltetrazoliumklorid till en produkt, som kallas formazan och detta gör att kolonierna blir röda till rödbruna. Dock så reducerar inte alla enterokocker detta ämne så därför ska man även räkna bleka kolonier. Mediet är väldigt selektivt för enterokocker så när plattan inkuberas vid 44 °C så kan man sedan anta att alla rosa-rödaktiga kolonier är enterokocker (Slanetz & Bartley, 1957).

3.4.3 Bakteriofager

Bakteriofager återfinns överallt i vår omgivning, i det vi äter och dricker och i vår natur. De är vitt spridda virus som specialiserar sig på att infektera olika bakterier. Fager kan vara oerhört effektiva och döda bakterierna med en gång. Ibland bäddar bakteriofagen istället in sig i bakteriens DNA, fagnen kan sedan vara passiv där under en period tills den reproducerar sig inuti bakterien. Detta leder till att fagen spränger bakterien från insidan. Fager är som oftast väldigt art-och stamspecifika och kan därför fördelaktigt användas för att detektera och karaktärisera olika typer av bakterier. Kolifager och F-RNA kolifager är två typer av bakteriofager som specialiserar sig på att infektera tarmbakterier och de använder sig av *E.coli* och närbesläktade arter som värdorganismer. Bakteriofager delar många egenskaper med mänskliga virus, speciellt sammansättning, morfologi, struktur och det sätt de replikerar sig på. Därför används bakteriofager i många studier som modellorganismer för virus. Kolifager kan alltså vara en modell för att bestämma hur virus generellt beter sig och hur känsliga de är för behandling och olika hygienisering-processer. Om man exempelvis tar reda på precis vad som krävs för att avdöda bakteriofager som är 7 gånger tåligare än exempelvis hepatitvirus så kan man på så sätt få reda på hur man skulle kunna avdöda hepatitviruset (PAOH, 2006).

Idag utförs forskning på hur bakteriofaganvändning skulle kunna ersätta penicillin eftersom bakteriers antibiotikaresistens ökar i hög takt idag. Fager kan precis som bakterier mutera och replikera sig snabbt och kan därför skapa nya varianter av fager som kan angripa förändrade bakterier (Morner, 2010).

4 Material och metod

4.1 Försöksupplägg

Totalt analyserades sju olika kombinationer med avloppsslam och tillsatser av de tre faktorerna urea, ECOX och strukturmateriäl i form av pipettspetsar i plast, dessa faktorer tillsattes i två nivåer till slammet, nämligen med eller utan. Dessa behandlingskombinationer studerades, tillsammans med kontroller utan tillsatser, i två omgångar. Inför de båda uppstarterna hämtades nytt avloppsslam från Bromma reningsverk eftersom avloppsslammets egenskaper och innehåll av organismer kan förändras vid lagring. Temperaturen övervakades under de båda försöken med hjälp av termometrar som placerades i mitten av kärlen. Termometrarna var kopplade till en datalogger (Intab, Sverige) som registrerade temperaturen var femte minut.

Komposteringen utfördes i 1 liters Dewarkärl (figur 3). Vilka behandlingar som studerades i de olika omgångarna slumpades fram i Minitab 16 (Minitab Inc., U.S.) och presenteras i tabell 1 nedan. I vart och ett av kärlen behandlades 350 g avloppsslam. Om behandlingen skulle innefatta urea tillsattes 0,75 % vilket innebär 2,265 g, skulle den innefatta ECOX så tillsattes 6 % per g slam vilket innebär 21 g och om behandlingen skulle innefatta strukturmateriäl så tillsattes 53 g pipettspetsar i plast. Samtliga kärl i den första komposteringen förslöts omedelbart med hjälp av frigolitlock som omslutits med parafilm. Komposteringen fortgick sedan i två veckor. Under första behandlingsomgången skedde provtagning under dag 2, 6 och 20.



Figur 3. Dewarkärl med kompostbehandlingarna stängda med frigolitlock omslutna med parafilm.

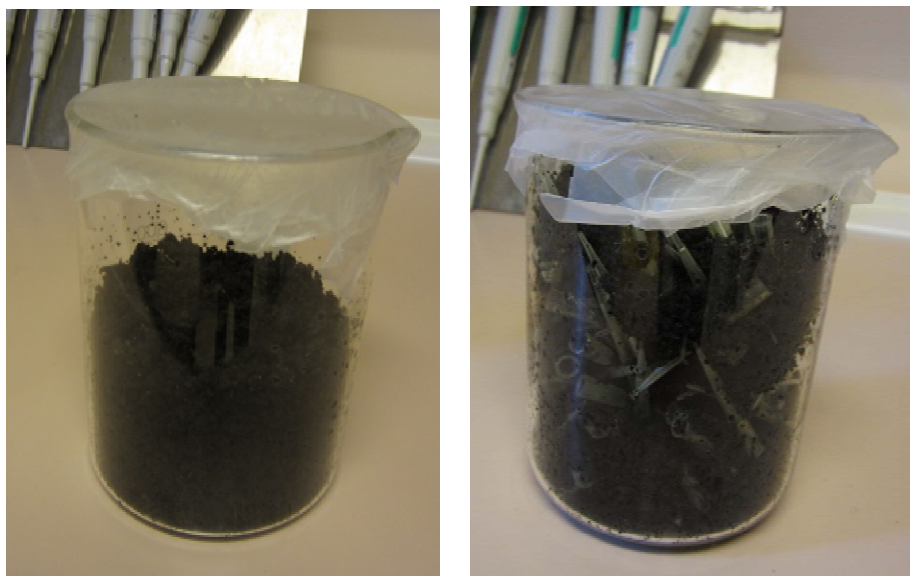
Tabell 1. Innehåll i de olika behandlingarna i de båda komposteringsperioderna.

Slumpordning	Behandling	Urea	Ecox	Struktur
1	(ES ₁)	-	+	+
2	(K ₁)	-	-	-
3	(E ₁)	-	+	-
4	(ESU ₁)	+	-	+
5	(US ₂)	+	-	+
6	(S ₂)	-	-	+
7	(U ₂)	+	-	-
8	(UE ₂)	+	+	-
9	(K ₂)	-	-	-

¹ De olika behandlingarna i den första komposteringsperioden

² De olika behandlingarna i den andra komposteringsperioden

Den andra komposteringen utfördes i 1 liters Dewarkärl av samma slag som i den första komposteringen (figur 3). Kärlen hölls öppna under ett dygn innan de förslöts med frigolitlock omslutna med parafilm. Det uppvägda slammet och tillsatsmaterialen blandades inför båda komposteringsarna i en plastpåse innan det tillsattes till de olika kärlen. Större bitar av slam delades isär i påsen. Materialet hälldes från påsen ned i Dewarkärlen och packades således ej (figur 4). Komposteringen fortgick i 2 veckor. Under andra behandlingsomgången skedde provtagning under dag 2,6,10, 16 och 20.



Figur 4. Foto som visar strukturen på material utan strukturmateriäl (vänster) och material med strukturmateriäl (höger).

4.2 Provtagning

Duplikatprovtagning utfördes från mitten av varje Dewarkärl. Fem gram slam togs ut och två olika primärspädningar utfördes, en 1:4 med avjonat vatten för de kemiska analyserna och en 1:9 med en buffrad (pH 7) NaCl lösning med pepton och Tween för de biologiska analyserna. Dessa primärspädningar utfördes i en plastpåse för att optimera omblandningen. Primärspädningen för analyserna fördes över centrifugrör som förslöts. Dewarkärlen förslöts återigen omedelbart efter det att slam tagits ut för provtagning. Provtagning utfördes på obehandlat

slam vid start och de analyser som då utfördes var TS, VS, pH, totalkväve(tot-N), TAN och chemical oxygen demand (COD) samt uppodling och räkning av kolifager, totala termotoleranta koliforma bakterier och enterokocker. Samma analyser, förutom COD, utfördes efter avslutad behandling av slammet. Under behandlingens gång analyserades pH, tot-N, TAN samt ovan nämnda mikroorganismer.

4.3 Fysikaliska analyser

4.3.1 Torrsubstans

Torrsubstanshalten (TS) för ett material anger andelen av materialet exklusive dess vatteninnehåll, alltså mängden torrt material som finns kvar efter fullständig torkning (Müller, 2011).

Prover om 20-30 g slam togs ut med målsättningen att 0,5 g av materialet skulle finnas kvar efter torkning. Proverna placerades i en kall ugn och temperaturen ökades till 105 °C under 30 minuter, därefter varade torkningen i 14 timmar. Efter avslutad torkning vägdes proverna och vikten noterades. För att testa att vikten inte förändras vid fortsatt torkning torkades materialet ytterligare i en timme och vägdes sedan. Därefter beräknades TS med hjälp av ekvation 3 (Müller, 2011).

$$TS - \text{Halt (\%)} = \frac{\text{vikt efter torkning}}{\text{vikt före torkning}} * 100 \quad (\text{Ekvation 3})$$

4.3.2 Glödningsförlust

Den organiska halten i slammet bestämdes genom glödning vid 550 °C under 4 timmar av ett vid 105°C torkat prov. Med glödningsförlust (VS) menas massaförlust vid glödning i jämförelse med det torra materialet innan glödningsförlusten. Fortsatt förbränning utfördes för att kontrollera att vikten av materialet ej förändrades ytterligare och materialet vägdes sedan. Därefter beräknades VS med hjälp av ekvation 4 (U.S Environmental Protection Agency, 2001).

$$g = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} * 100 \quad (\text{Ekvation 4})$$

g = glödningsförlust [%]

m_1 = massa bägare och torkat prov i 105°C [g]

m_2 = massa bägare och torkat prov i 550 °C [g]

m_3 = massa bägare [g]

4.4 Kemiska analyser

4.4.1 pH

En timme efter det att primärspädningen (1:4) bereddades mättes pH med elektroden, PHC 2051 (Radiometer Köpenhamn) och en standard pH meter, PHM 210 (Radiometer, Köpenhamn).

Från denna spädning gjordes en spädningsserie med avjonat vatten (1 ml till 9 ml avjonat vatten) för analyser av COD, tot-N, TAN.

4.4.2 COD

COD analyserades kolorimetriskt med chromosulphuric acid oxidation-metoden (Spectroquant 1.14541.0001; Merck, Darmstadt). Primärspädningen späddes ytterligare med avjonat vatten för att passa metodens mätintervall t ; 25,0 – 1 500,0 mg/l. Provröret skakades varsamt för att få upp partiklarna från botten. Tre ml av provet tillsattes med varsamhet till ett teströr innehållandes reagenser. Teströret placerades sedan i 148 °C i en redan uppvärmd termoreaktor i två timmar. Provet fick sedan svalna i rumstemperatur, skakades efter tio minuter och fick därefter svalna ytterligare tills lösningen blev rumstempererad. Mätning av absorbansen utfördes därefter i en spektrofotometer (Spectroquant TR420, Merck, Darmstadt).

4.4.3 Tot-N

Tot-N analyserades kolorimetriskt med oxidation, 2,6-dimetylphenol-metoden (Spectroquant 1.14763.0001; Merck, Darmstadt). Mätintervall för kittet; 10,0 – 150,0 mg/l N. 1 ml prov tillsattes till ett tomt provrör och därefter tillsattes 9 ml avjonat vatten. Lösningen blandades sedan med hjälp av en vortex. 1 sked av reagensen N-1K tillsattes och lösningen blandades igen. 6 droppar av reagensen N-2K tillsattes och lösningen blandades återigen. Provet placerades sedan i 120 °C i en redan uppvärmd termoreaktor i en timme. Provet fick svalna i rumstemperatur och skakades efter 10 minuter, därefter fick lösningen svalna ytterligare. 1 ml av provet tillsattes till ett teströr och skakades ej. 1 ml av reagensen N-3K tillsattes därefter med pipett och lösningen skakades. En exoterm reaktion sker och provröret blev varmt därför fick det stå och svalna i 10 minuter. Mätning utfördes sedan i en spektrofotometer (Spectroquant TR420, Merck, Darmstadt).

4.4.4 TAN

TAN analyserades kolorimetriskt med indolfenolblå-metoden (Spectroquant 1.14559.0001; Merck, Darmstadt). Mätintervall för kittet; 4,0 – 80,0 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$. Lösningarna filtrerades innan analysens start. Ett kit användes sedan för analys. 0,10 ml av provet tillsattes till ett teströr innehållandes två reagenser och skakades sedan. En dos $\text{NH}_4\text{-1K}$ reagens tillsattes till provröret och skakades kraftigt. Lösningen fick därefter stå i 15 minuter innan den mättes i en spektrofotometer (Spectroquant TR420, Merck, Darmstadt).

4.5 Mikrobiologiska analyser

En spädningsserie utfördes från primärspädningen av slamprovet, också med (pH 7) NaCl lösning med pepton och Tween (1 ml till 9 ml buffertlösning). Spädningsserien fick sedan stå i rumstemperatur i 20-30 minuter. Vilken spädning som användes berodde på föregående resultat av räkningen av mikroorganismer. En lägre spädning användes för analys av kolifager än vid analys av enterokocker och totala termotoleranta koliforma bakterier.

4.5.1 Enterokocker

0,1 ml provlösning droppades på en SlaBa-agarplatta och ströks sedan ut med en t-rackla. Agarplattan inkuberades sedan i $44\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ i 48 ± 2 timmar. Kolonierna för enterokocker blir allt från rosa till mörkröda med metallglans, därför räknades samtliga kolonier över 0,5 mm i diameter inom den färgskalan. Detektionsgränsen var 10 CFU/g slam.

4.5.2 Totala termotoleranta koliforma bakterier

1 ml provlösning tillsattes till en petriskål tillsammans med ca 10 ml smält VRG-agar (Violettröd-galla agar), blandning utfördes sedan genom att röra petriskålen i en åtta. Efter att denna blandning stelnat så tillsattes ännu ett lager med smält VRG-agar och när detta lager stelnat inkuberades plattan i $44\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ i 24 ± 3 4 timmar. Kolonier med en halo runt sig och med en storlek på cirka 0,5 mm i diameter räknades.

Konfirmation av TTK och *E.coli*

Vidare analys av de totala termotoleranta koliforma bakterierna utfördes efter avslutad inkubationstid. En typisk bakteriekoloni skrapades upp från agarplattan med en ympnål och tillsattes till ett provrör laktos-trypton-laurylsulfat-buljong (LTLS-buljong). Denna inkuberades sedan i 44°C i 24 timmar. Gasbildning används som en konfirmation av att det är totala termotoleranta koliforma bakterier. Därefter tillsattes 0,3-0,5 ml kovacs reagens, vilken färgades rosa om kolonin bestod av *E. coli* bakterier.

4.5.3 Somatiska och f-RNA kolifager

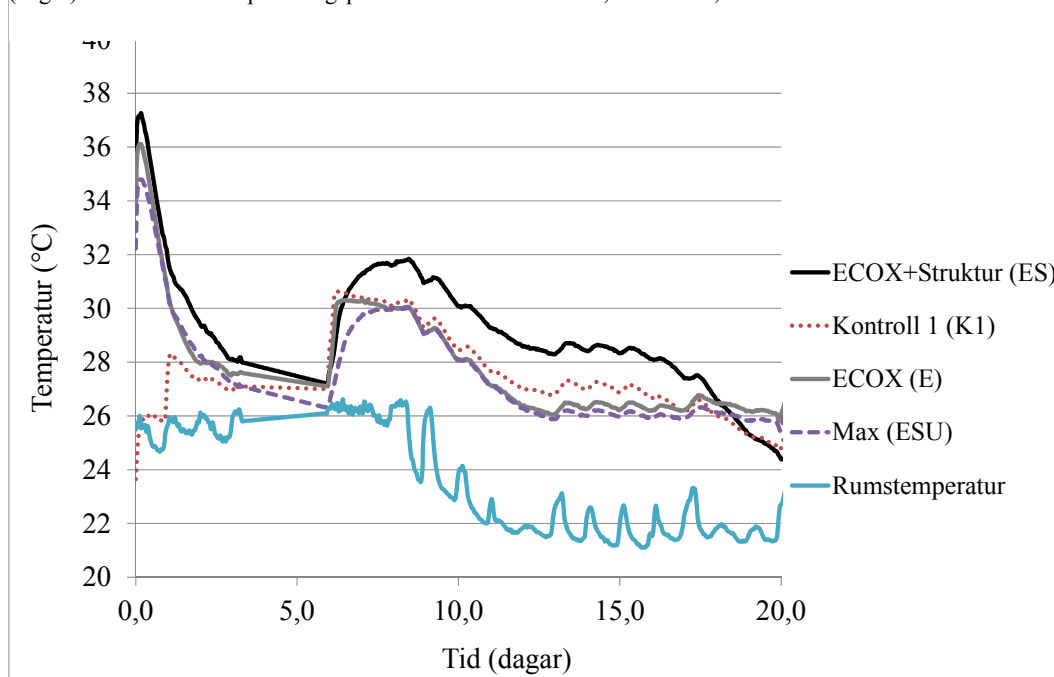
Steg 1 var att bereda bakterie värdlösningar. Värd bakterien för phiX174 fagern (somatisk kolifag) är *E.coli* 13706 och värd bakterien för MS2 fagern (f-RNA kolifag) är *Salmonella Typhimurium* WG49, så därför skrapades en typisk koloni av respektive värd bakterie upp med en ympnål och tillsattes till näringsbuljong som sedan inkuberades i 37°C i cirka tre timmar. Det är viktigt att utföra analysen då bakterierna fortfarande är i tillväxtfasen.

Steg 2. 2 ml softagar tillsattes till samtliga provrör stående i ett 46-gradigt varmt värmeblock. 1 ml provlösning tillsammans med 1 ml *E.coli* 13706-värdlösning tillsattes till de provrör där de somatiska fagera skulle detekteras. 1 ml provlösning tillsammans med 1 ml *Salmonella Typhimurium* WG49-värdlösning tillsattes till de provrör där f-RNA fagera skulle detekteras. Lösningen vortexades och hällades ut på en blodagar bas-platta som inkuberades upp och ner i $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ i 16-18 timmar. De klara zonerna räknades och angavs som plack bildande enheter (PFU).

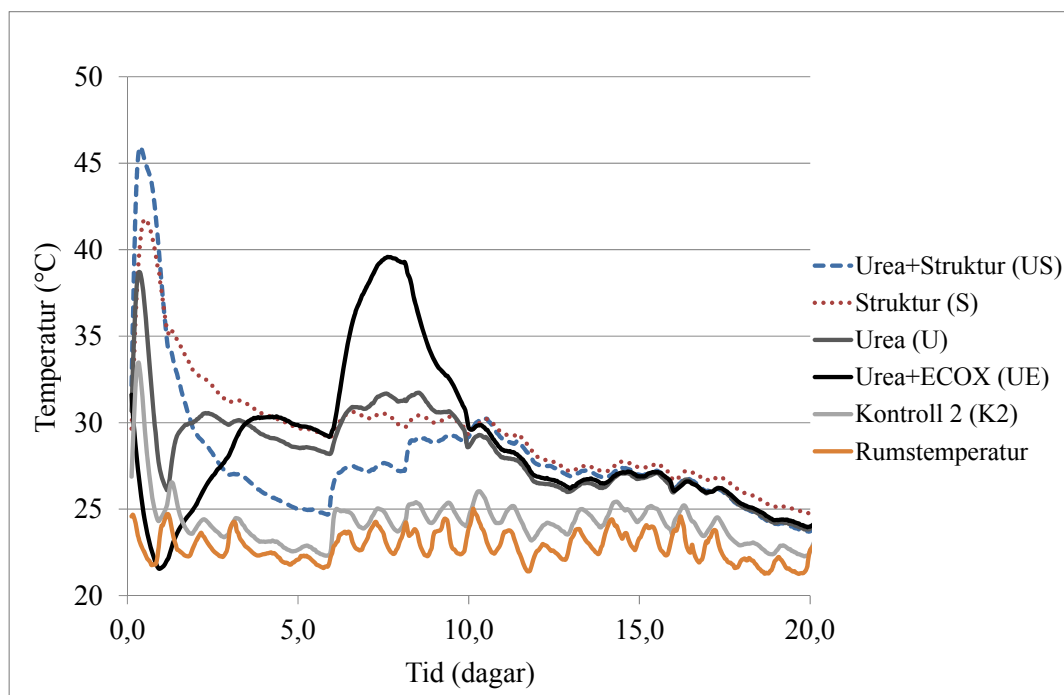
5 Resultat

Behandlingen ES₁ uppvisade den högsta temperaturen under första omgången, samt även den högsta temperaturpiken på ungefär 37 °C (figur 5). Även E₁ uppvisade en hög initialtemperatur, 36 °C men däremot en lägre temperatur under komposteringsperioden. ESU₁ uppvisade en relativt hög initialtemperatur, cirka 35 °C och hade under komposteringsperioden en något lägre temperaturutveckling än ES₁. K1₁ uppvisade inte någon hög initialtemperatur, 28 °C men däremot erhöles en relativt hög temperatur under komposteringsperiodens gång med ett maxvärde på cirka 31 °C. Rumstemperaturen fluktuerade mellan cirka 21-26 °C under perioden.

Figur 5. Temperaturutveckling (°C) hos respektive behandling och rumstemperaturen i laboratoriet över tid (dagar) under första komposteringsperioden. E står för ECOX, U för urea, S för struktur och K för kontroll.



Den högsta initialtemperaturen erhöles för US₂, cirka 46 °C i den andra komposteringsperioden, under komposteringsperioden låg temperaturen mellan 25-30 °C (figur 6). Den näst högsta piken hade S₂, cirka 42 °C som därefter hade en något högre temperatur under perioden. Behandlingen U₂ hade också en relativt hög initialtemperatur, cirka 39 °C, och under komposteringsperioden låg temperaturen mellan intervallet 26-32 °C. UE₂ hade den lägsta initialtemperaturen, 32 °C och följde sedan de andra behandlingarnas temperaturer relativt väl. K₂ hade en något högre maxtemperatur, 34 °C men hade däremot den lägsta temperaturen under komposteringsperioden. Rumstemperaturen fluktuerade mellan temperaturintervallet 22-25 °C.



Figur 6. Temperaturutveckling (°C) hos respektive behandling och rumstemperaturen i laboratoriet över tid (dagar) under andra komposteringsperioden. E står för ECOX, U för urea, S för struktur och K för kontroll.

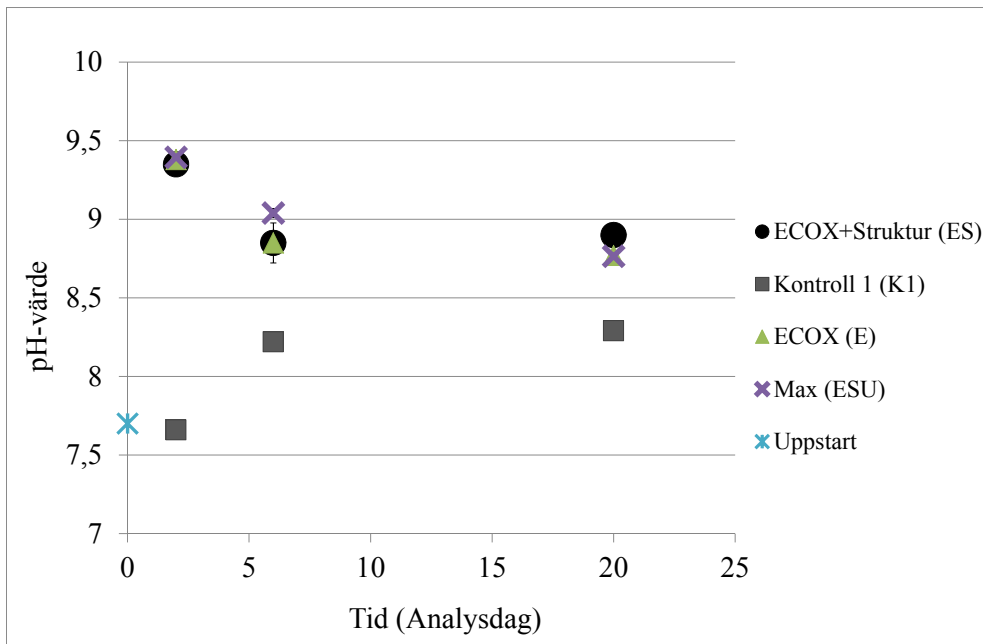
5.1 Kemiska analyser

Tabell 1 visar medelstartvärden för pH, torrs substans, glödningsförlust, COD, totala termotoleranta koliforma bakterier, enterokocker samt somatiskt bakteriefager för respektive batch av obehandlat slam.

Tabell 1. Medelstartvärden \pm för pH, TS, VS och COD och mikroorganismer i batch 1 respektive 2 med slam från Bromma reningsverk.

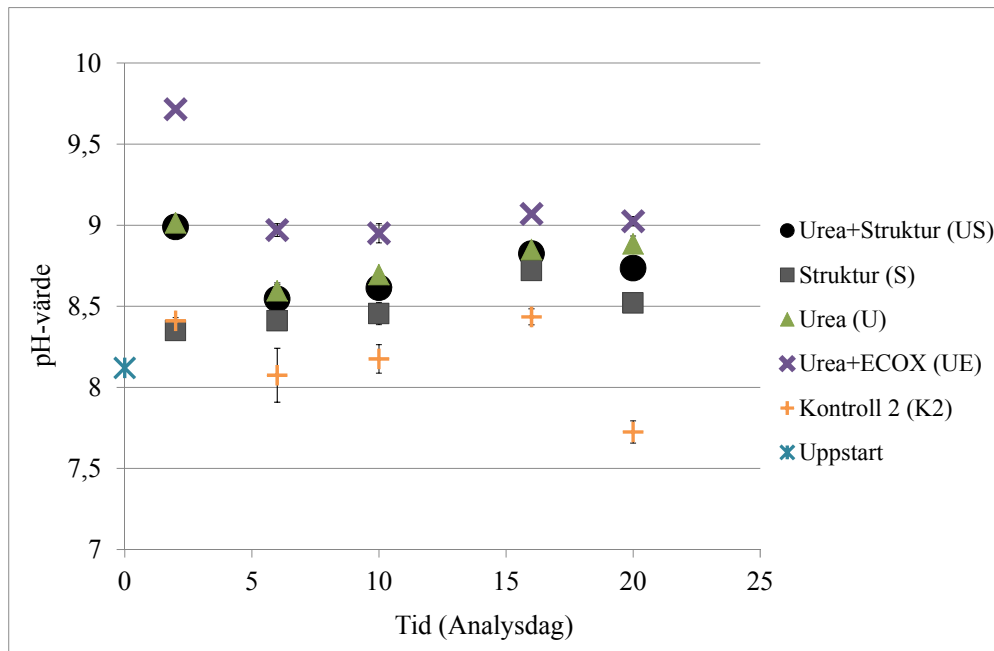
Batch	pH-värde	TS (%)	VS (%)	COD (g/kg slam torr vikt)	TTK (CFU/g slam)	Enterokocker (CFU/g slam)	Bakteriefager (CFU/g slam)
1	7,7 \pm 0,025	28,4 \pm 0,17	56,1 \pm 0,018	321,5	1,1*10 ⁴	4,6*10 ⁵	4,2*10 ²
2	8,1 \pm 0,01	34,4 \pm 0,15	60,3 \pm 0,040	440,4	3,0*10 ⁷	5,7*10 ⁶	2,4*10 ²

Behandlingarna som innefattade ECOX₁, ES₁, E₁ och ESU₁ uppvisade de högsta pH-värdena inom första omgången med ett intervall på cirka 8,6-9,3 (figur 7). K₁ uppvisade under perioden de lägsta pH-värdena med värden inom intervallet 7,6-8,3.



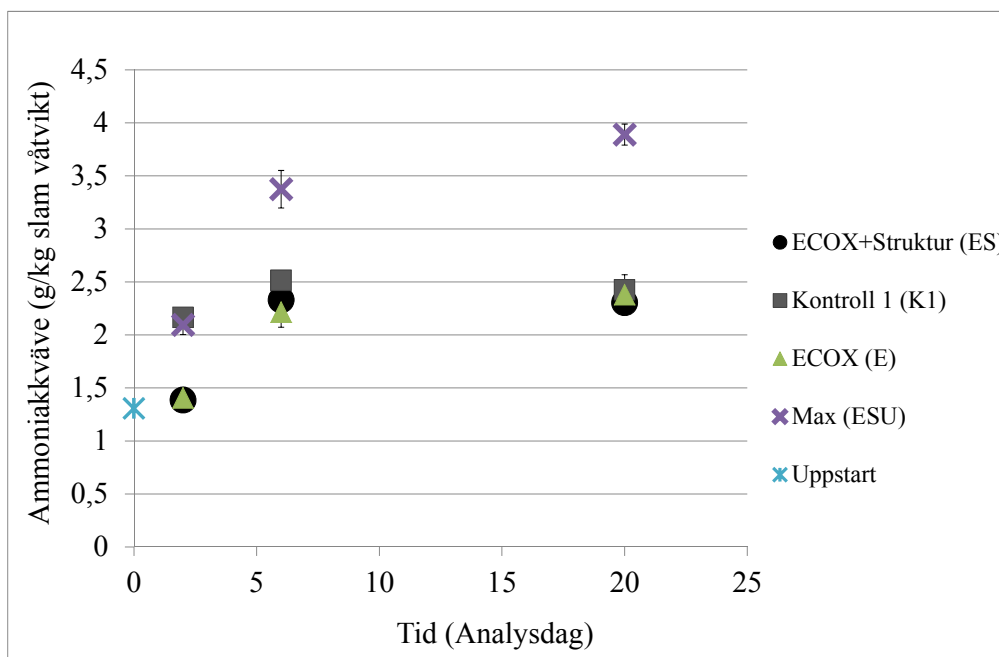
Figur 7. Respektive behandlingars pH-värden över tid (dagar) i omgång 1 där E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll. Medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen.

Behandlingen UE₂ uppvisade det högsta pH intervallet i andra omgången, nämligen cirka 9,1-9,7 (figur 8). Skillnaden i pH mellan behandlingarna US₂ samt U₂ är obetydlig. Skillnaden mellan dessa behandlingars pH-värden och S₂ är också relativt liten. Behandlingen K₂ har det lägsta pH intervallet, nämligen cirka 7,6-8,4.



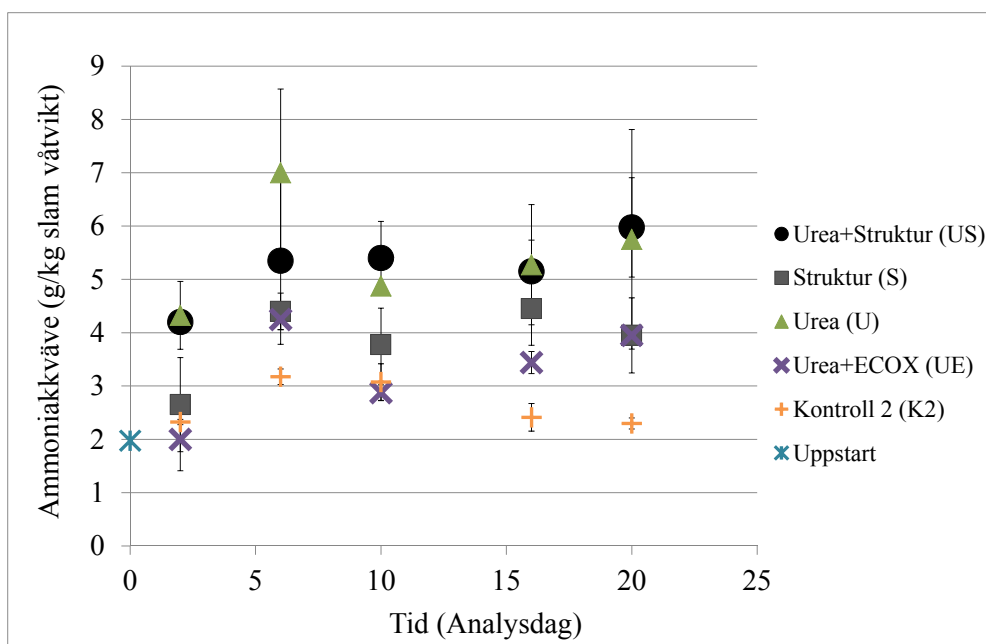
Figur 8. Respektive behandlingars pH-värden över tid (dagar) i omgång 2 där E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll. Medelvärde; samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen.

Behandlingarna utan ureatillsats, ES₁, E₁ och K1₁ följde varandra relativt väl med ammoniakkvävehalter i intervallet 1,4-2,5 g/kg slam våtvikt, figur 9. Behandlingen med urea, ESU₁, uppvisade de högsta halterna i första omgången inom intervallet 2-3,9 g/kg slam våtvikt.



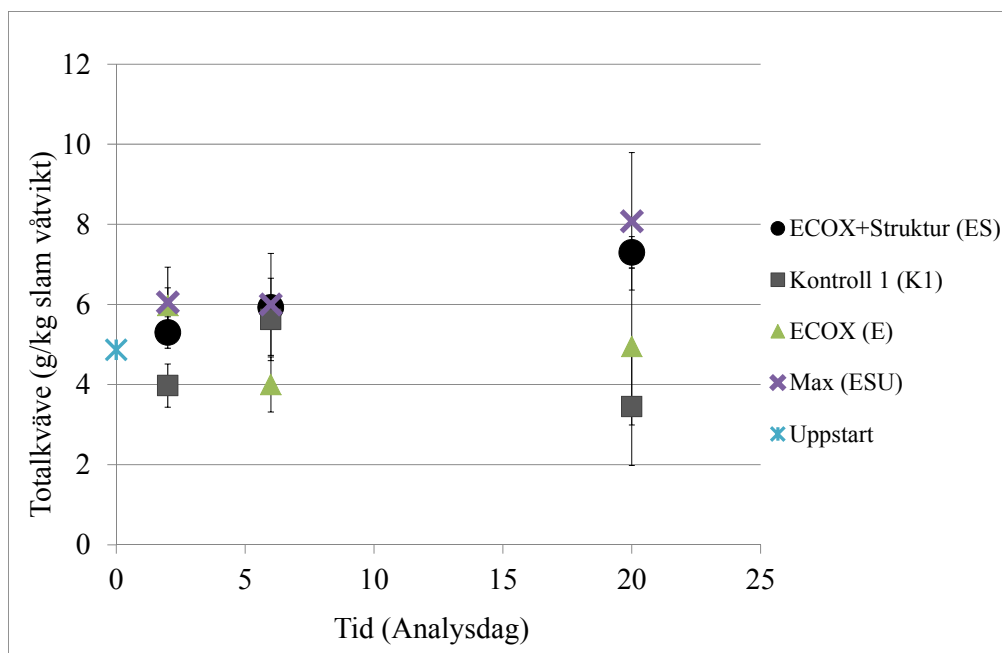
Figur 9. Ammoniakkvävehalt (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling i omgång 1; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Under dag 2 skiljer sig ammoniakkvävehalten för behandlingarna S₂, UE₂ samt K₂ obetydligt från startvärdet, 1,9 g/kg slam våtvikt, figur 10. K₂ uppvisar sedan de lägsta värdena under perioden medan värdena för behandlingarna S₂ och UE₂ ligger aningen högre. De högsta halterna för komposteringsperiod 2 uppvisar behandlingarna US samt U vars värden följs åt relativt väl med ett intervall på cirka 4,1-6,9 g/kg slam våtvikt. Dock uppvisar alla behandlade prov ett relativt stort konfidensintervall.



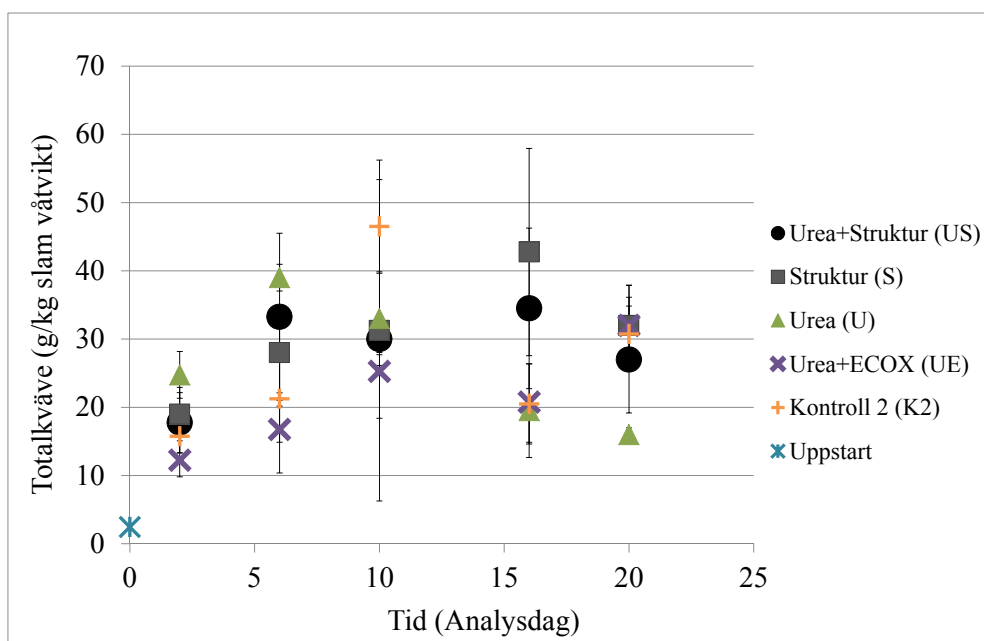
Figur 10. Ammoniakkvävehalt (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling i omgång 2; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

ES₁ och ESU_{1S} totalkvävekoncentration följde varandra relativt väl med halter inom intervallet 5-7,9 g/kg slam våtvikt (figur 11). Behandlingarna E₁ och K1₁ uppvisade något lägre värden inom intervallet 3,8-5,8 g/kg slam våtvikt.



Figur 11. Totalkväve (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling i omgång 1; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

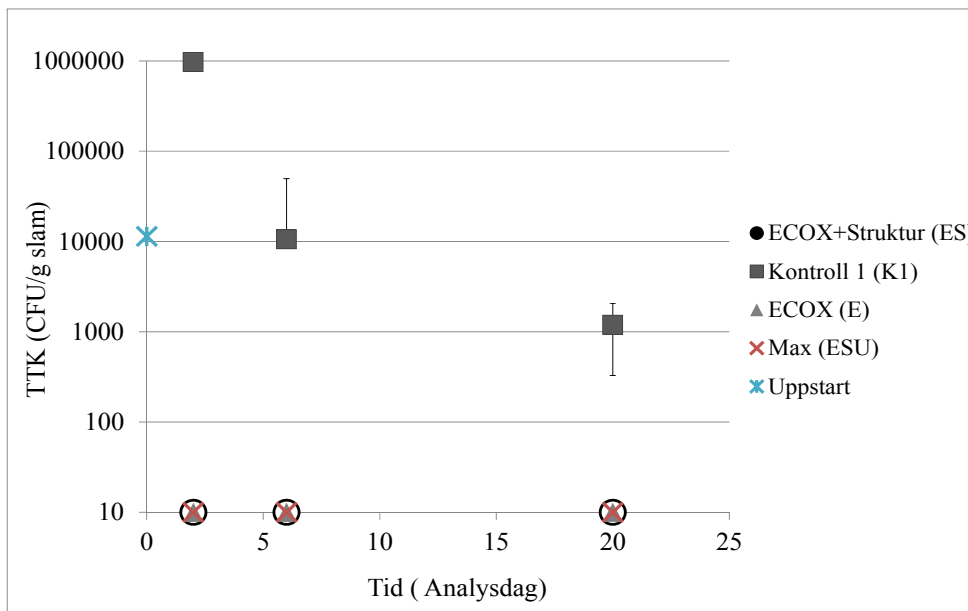
Vid uppstart av andra omgången erhöles värdet 2,4 g totalkväve/kg slam våtvikt för slammet (figur 12). UE₂ hade under perioden de lägsta halterna med ett intervall på cirka 12-28 g/kg slam våtvikt. Behandlingarna S₂ och US₂ följde varandra relativt väl, samt även U₂ till dag 16 då halten totalkväve minskade till ungefär 20 g/kg slam våtvikt. Halten totalkväve i K2₂ följde UE relativt väl förutom en pik vid dag 10 på cirka 47 g/kg slam våtvikt.



Figur 12. Totalkvävehalt (g/kg slam våtvikt) som en funktion av tid (dagar) för respektive behandling i omgång 2; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

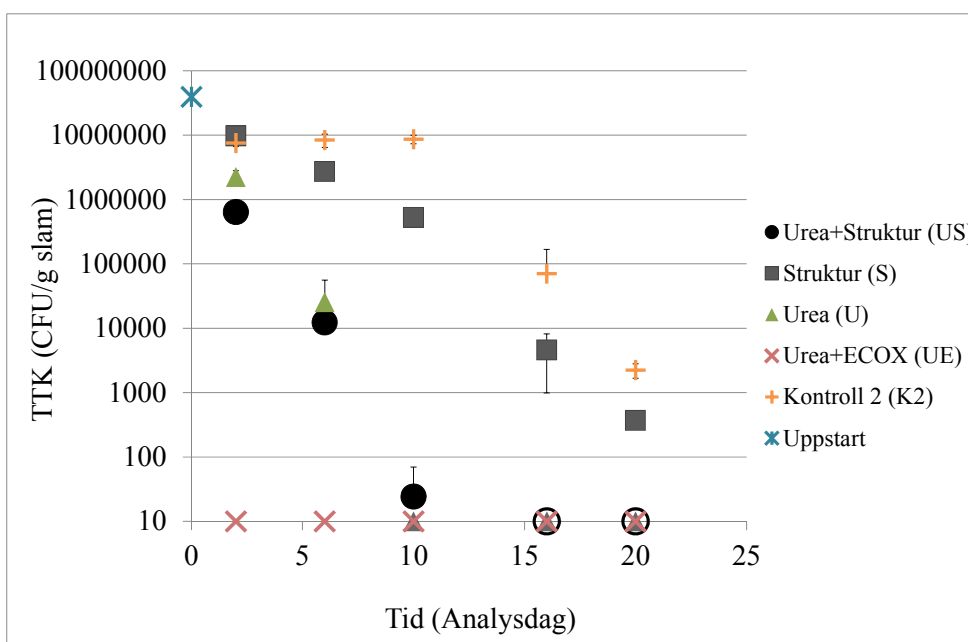
5.2 Mikrobiologiska analyser

Figur 13 visar att en $1 \log_{10}$ reduktion av TTK erhållits i första omgången för K1₁ efter 20 dagars behandling och kompostering. Vidare att en $3 \log_{10}$ reduktion erhållits för de resterande behandlingarna efter 2 dagars behandling och kompostering. Detektionsnivån var 10 CFU/g slam.



Figur 13. Koncentration av totala termotoleranta koliforma bakterier (CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar) i omgång 1; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Den mest effektiva reduktionen av TTK, nästan $7 \log_{10}$, har erhållits i den andra komposteringsperioden för behandlingen UE₂ efter 2 dagar, figur 14. Samma reducering, nästan $7 \log_{10}$ har också erhållits för behandlingarna US₂ och U₂ men istället på 10-16 dagar. En mindre reducering har erhållits för S₂, nämligen cirka $5 \log_{10}$. Den lägsta reduceringen, $4 \log_{10}$ har vidare fått för K₂. Detektionsnivån är 10 CFU/g slam.



Figur 14. Koncentration av totala termotoleranta koliforma bakterier (\log_{10} CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar) i omgång 2; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Tabell 3 visar resultatet från den vidare detektionsanalysen av TTK och *E.coli* i 3 replikat från den första batchen med slam. Tabellen visar att 90 % av bakterierna var TTK och vidare att 77,7 % av dessa 9 var *E.coli*.

Tabell 2. Analysresultat för detektion av totala termotoleranta koliforma bakterier för 3 replikat från första batchen med slam. Vidare analys gav resultat om närvaro av *E.coli*.

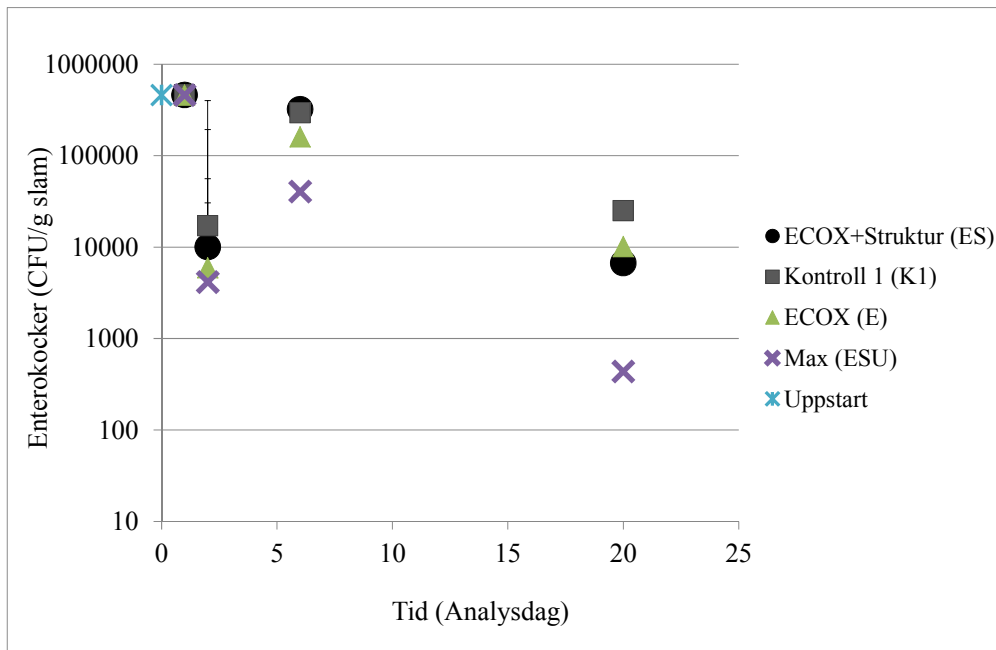
Replikat	Utveckling av gas (TTK)	Rosafärgad (<i>E. coli</i>)
1	9 av 10	7 av 9
2	9 av 10	7 av 9
3	9 av 10	7 av 9

Tabell 4 visar resultatet från den vidare detektionsanalysen av TTK och *E.coli* i 3 replikat från den andra batchen med slam. I medel 86,6 % av bakterierna var TTK och samtliga av dessa visade sig vara *E.coli*.

Tabell 3. Analysresultat för detektion av totala termotoleranta koliforma bakterier för 3 replikat från andra batchen med slam. Vidare analys gav resultat om närvaro av *E.coli*.

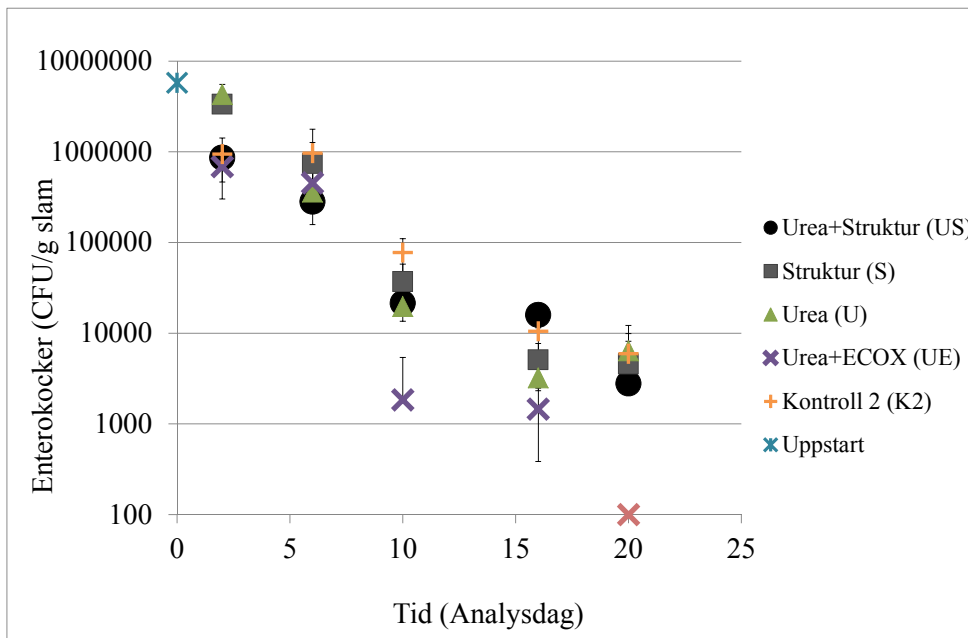
Replikat	Utveckling av gas (TTK)	Rosafärgad (<i>E.coli</i>)
1	7 av 10	7 av 7
2	10 av 10	10 av 10
3	9 av 10	9 av 9

Figur 15 visar att felstaplarna under enterokockkoncentrationerna dag 2 på stor variation för samtliga behandlingar. Till dag 20 har sedan ungefär 2 log₁₀ reduktion av enterokocker erhållits för ES₁, K1₁ och E₁. Den största reduktionen, ungefär 3 log₁₀, erhöles i den första omgången för ESU₁. Detektionsnivån var 10 CFU/ g slam.



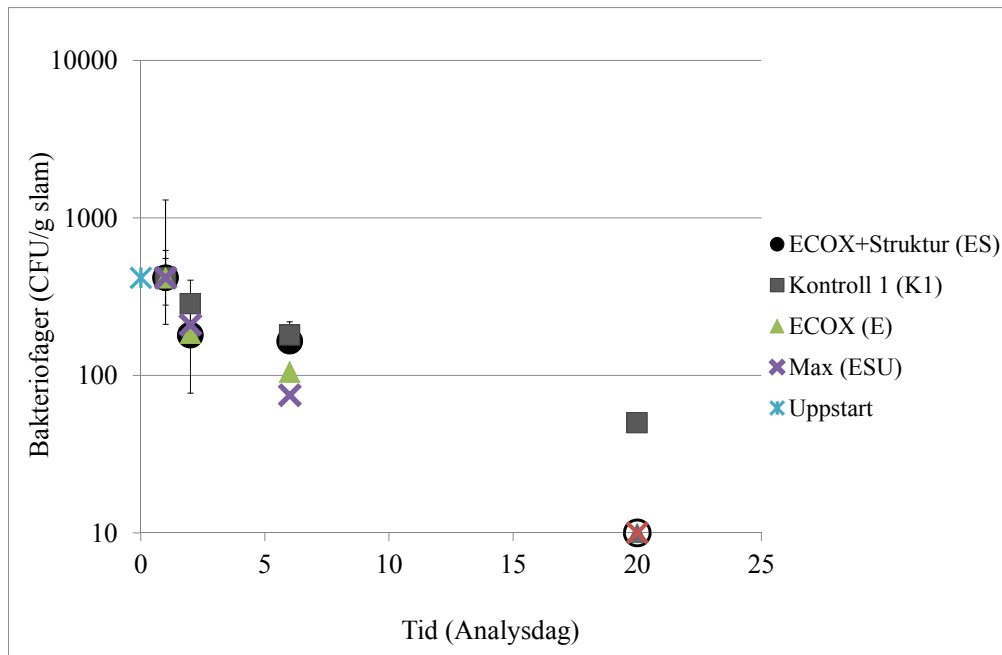
Figur 15. Koncentration av Enterokocker (CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar) i omgång 1; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Den mest effektiva reduceringen av enterokocker i den andra komposteringsperioden, 5 \log_{10} , erhöles för behandlingen UE₂ (figur 16). Resterande behandlingar följer varandra relativt väl med en reduktion på nästan 4 \log_{10} . Detektionsnivån var 100 CFU/g slam.



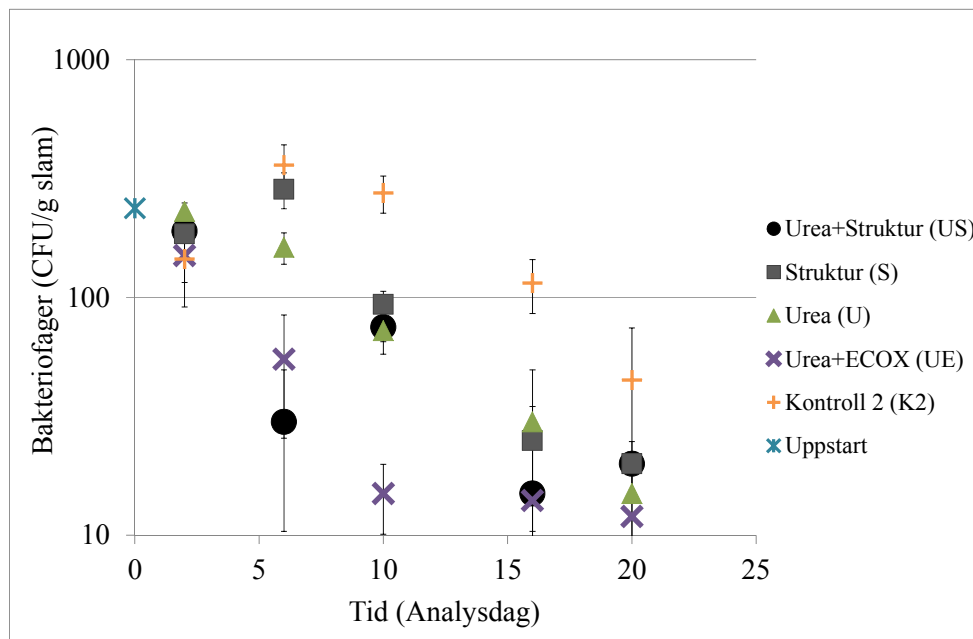
Figur 16. Koncentration av Enterokocker (\log_{10} CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar) i omgång 2; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Cirka 1 \log_{10} reduktion av somatiska bakteriofager erhöles för K₁ (figur 17). Vidare har ungefär 1 och en halv \log_{10} reduktion erhöles för de resterande behandlingarna i omgång 1. Detektionsnivån är 10 CFU/g slam.



Figur 17. Koncentration av Somatiska koliforma bakteriofager (CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar) i omgång 1; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Den mest effektiva reduceringen av somatiska bakteriofager i den andra komposteringsperioden, cirka 1 och en halv log, har erhållits för behandlingen UE₂ (figur 18). Vidare har även en reduktion fått för behandlingarna US₂, U₂ och S₂, cirka 1 log₁₀ reduktion. Den minsta reduceringen har erhållits för K₂, knappt 1 log₁₀ reduktion. Detektionsnivån är 10 CFU/g slam.



Figur 18. Koncentration av Somatiska koliforma bakteriofager (log₁₀ CFU/g slam) som en funktion av tid (dagar) i omgång 2; medelvärde samt ett 95 %-igt konfidensintervall som visar mått på spridningen. E står för ECOX, S för struktur, U för urea och K för kontroll.

Analys påvisade frånvaro av f-RNA fager vid dag 0 i batch 1, vid detektionsnivån, 10 CFU/g slam. Efter detta gjordes inga fler analyser av f-RNA fager.

Analys påvisade närvaro av f-RNA fager, 365 CFU/g slam vid dag 0 för batch 2. Under dag 2 påvisades dock inga f-RNA fager vid detektionsnivån, 10 CFU/g slam. Efter detta gjordes inga vidare analyser av f-RNA fager.

6 Diskussion

6.1 Hygienisering

En hypotes för studien var att behandlingen ECOX kombinerat med strukturmateriel skulle bidra till optimering av kompostering och hygienisering av avloppsslam genom att bilda syre som möjliggör en högre komposteringstemperatur som i sin tur bidrar till en mer effektiv hygienisering. Denna hypotes verkar för denna studie stämma då de behandlingar med ECOX och strukturmateriel uppvisat en högre temperatur än de resterande behandlingarna. De högsta temperaturerna nåddes i studiens andra kompostering, detta berodde på att kärnen hölls öppna under ett dygn innan de förseglades. Den högsta initialtemperaturen, 45 °C nåddes därför för behandlingen med urea och struktur i andra omgången följt av behandlingen med struktur i samma omgång vars maxtemperatur var, 42 °C (figur 6). Relativt höga initialtemperaturer nåddes även i studiens första komposteringsperiod, trots att kärnen förseglades med en gång efter tillsatserna. Under denna period var det behandlingar med ECOX som uppvisade de högsta temperaturerna (figur 5). Tillsatts av ECOX gav alltså en högre initialtemperatur och kombinationen av ECOX och strukturmateriel gav även högre temperaturer över tid. I de prov där både ECOX och urea var tillsatt hämmades temperaturutvecklingen. En möjlig förklaring till detta kan vara att urean hämmar temperaturutvecklingen på grund av att urean påverkar mikroorganismerna i slammet. Mikroorganismerna kan då ej starta igång komposteringen och ingen temperaturökning fås.

Studien visar att hygieniseringen varit mer effektiv för de behandlingar som innefattat ECOX. Reduktion av de totala termotoleranta koliforma bakterierna var mest effektiv vid tillsatts av ECOX i behandlingarna ES₁, E₁, ESU₁ (figur 13) där 3 log₁₀ reduktion erhöles efter 2 dagar. Effektiv hygienisering erhöles också vid kombination av ECOX och urea i behandlingarna UE₂ (figur 14) där 6 log₁₀ reduktion erhöles efter 2 dagar. Kombinationen ECOX och urea är mer effektiv vid hygienisering av de tre olika mikroorganismerna än de behandlingar där endast urea är tillsatt (figur 14, 16 och 18). En långsammare reduktion erhöles för S₂ och K₂ (figur 16) vilket var väntat men en tendens till linjär reduktion över tid finns hos dessa. Dock är det svårt att veta hur det skulle sett ut efter 20 dagar, det kan mycket väl vara så att reduktionen då planas ut. En lägre reduktion, totalt sett, har beräknats för samtliga behandlingar under första komposteringen om man jämför med den andra. Detta beror på att startvärdena för batch 1 var betydligt lägre än för batch 2.

6.2 pH

Kombinationen av ECOX och urea (UE₂) gav det högsta pH-värdet (pH 9,7), dock var detta pH ej stabilt då det sjönk till ungefär nio till dag sex. En anledning till att pH värdet sjunker en aning efter några dagar kan vara att urean bryts ner till ammoniak och karbonater, karbonaterna buffrar och stabiliserar pH kring 9. Denna behandling uppvisade ett högre pH än den behandling som endast innehöll urea vilket indikerar att ECOX kan ha en positiv påverkan på

ökning av pH. En hypotes till detta är att ECOX neutraliseras till natriumkarbonat vid nedbrytning. Natriumkarbonat blir aningen basiskt när den kommer i kontakt med vatten vilket kan vara en av de orsaker som bidragit till det förhöjda pH-värdet.

6.3 Ammoniakkväve

Figur 7 visar att (ESU₁) behandlingen nådde de högsta ammoniakkvävehalter, vilket är logiskt eftersom urea var tillsatt till denna. Det är dock inte logiskt att de andra behandlingarna med urea inte nådde samma koncentrationer. Rent teoretiskt skulle man kunna få en ökning av ammoniakkväve med 3,75 g/ kg slam. Denna ökning har ej erhållits i denna studie, detta kan bero på förluster vid provtagning då locken på kärlen togs av. En annan orsak kan vara att all urea ej brutits ner till ammoniak. De andra behandlingarna med urea har också uppvisat höga ammoniakkvävehalter, dock uppvisade behandlingen (UE₂) något lägre värden. De resterande behandlingarna och så även kontrollen uppvisade relativt lika ammoniakkvävehalter, detta är väntat eftersom dessa prov ej behandlats med urea.

6.4 Studiens begränsningar

Det faktum att de två batcherna var olika gjorde det svårt jämföra de två olika batcherna. Det optimala hade varit att använda slam från samma batch. Det hade varit intressant att haft likadana kombinationer av tillsatserna i de båda perioderna för att se hur mycket hygieniseringen hade påverkats på grund av öppna/stängda kärl. Det hade speciellt varit intressant att ha kombinationen ECOX, urea och strukturmaterial i samma komposteringsperiod som kombinationen urea och ECOX för att se om den förstnämnda kombinationen resulterat i en ännu mer effektiv hygienisering. Under komposteringen så är det oerhört viktigt att behållarna är täta och öppna under så liten period som möjligt för att undvika ammoniakförluster. Detta är något som skulle kunna reduceras i liknande framtida studier.

6.5 Tidigare studier och framtida forskning

Det finns många tidigare studier som visat att urea- och ammoniakhygienisering ger en effektiv avdödning av mikroorganismer (Nordin, 2010; Ottoson, et al., 2008). Ett flertal studier har visat att tillsatts av 2 % urea vid 24 °C är tillräckligt för en tillfredsställande hygienisering (Fransson, 2011). I denna studie var 0,75 % vid 35 °C tillräckligt för en god hygienisering. Många lyckade studier har utförts vid SLU där ammoniakhygieniseringen också har utvecklats. Några tidigare studier som innefattar hygienisering med kombinationen urea och ECOX har ej påträffats. Därför finns god potential för framtida forskning inom området. En relativt stor dos ECOX tillsattes i denna studie, i framtida studier skulle man kunna studera om lägre doser skulle ge samma effekt. I sådant fall skulle metoden bli mer ekonomiskt hållbar och möjlig att använda som en del i hygieniseringen av avloppsslam.

7 Slutsats

En lika effektiv hygienisering för TTK och bakteriofager har erhållits i första omgången både med behandlingen innehållande ECOX och strukturmaterial samt för behandlingen med ECOX, strukturmaterial och urea. Detta betyder att urean inte tillförde något för hygieniseringen under den komposteringsperioden. För hygienisering av enterokocker så krävdes dock urea för att få en mer effektiv hygienisering.

Studien visar att de högsta komposterings temperaturerna erhållits för de kombinationer som innefattat ECOX. Vidare att den mest effektiva avdödningen av mikroorganismer i den andra omgången har erhållits för de behandlingar som innefattat ECOX och urea, där en 6 log₁₀ reduktion av termotoleranta koliforma bakterier erhöles efter 2 dagar. En effektiv avdödning av de tre mikroorganismgrupperna har också erhållits för behandlingen med ECOX, urea och strukturmaterial. Kombinationen av ECOX och urea visade sig också ge ett högt pH-värde som är gynnsamt för hygieniseringsprocessen.

Studien visar alltså att en kombination av ECOX, strukturmaterial och urea ger en gynnsam slamhygienisering även vid relativt låga komposterings temperaturer.

8 Källförteckning

- Andersson, R. o.a., 2013. *Sammanfattning av KSLAs fyra workshops våren 2012 samt tre slamstrategier*, Uppsala: KSLA.
- de Bertoldi, M., Vallini, G. & Pera, A., 1983. The biology of composting: A review. *Waste Management & Research*, Issue 1, pp. 157-176.
- Ek, L., 2012. *Naturvårdsverket*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.naturvardsverket.se/upload/miljoarbete-i-samhallet/sveriges-miljoarbete/regeringsuppdrag/fosfor/ru-aterforing-fosfor.pdf>
[Använd 15 04 2013].
- Emerson, K., Russo, R., Lund, R. & Thurston, R., 1975. Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature.
- Fransson, J., 2011. *En jämförelse mellan amplifierad singelmolekylanalys och selektiv agar vid kontroll av hygienisering av avloppsslam*. Magisteruppsats., Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet.
- Guerin, T., 2001. Co-composting of pharmaceutical wastes in soil. *Letters in Applied Microbiology*, pp. 256-263.
- Hansen, B., 2013. *Kemira* [Intervju] 2013.
- Haug, R. T., 1979. Engineering principles of sludge composting. *Journal of Water Pollution Control Federation*, pp. 2189-2195.
- Haug, R. T., 1993. *The practical handbook of compost engineering.*, Florida: Boca Raton: Lewis Publishers.
- Held, J., 2007. *Rapport Svenskt gastekniskt center, Alternativa hygieniseringsmetoder*, u.o.: Lunds energikoncern AB.
- Johansson, L., 2013. *Mikroorganismer i livsmedel*. [Online]
Tillgänglig: http://www.kungälv.se/bygga-bo-ochmiljo/Livsmedel/Mikroorganismer_i_livsmedel/#Termotoleranta [Använd 04 04 2013].
- Jönsson, H., 2013. [Intervju] (Maj 2013).
- Jönsson, H. o.a., 2003. [Online]
Tillgänglig: http://www.slu.se/Documents/externwebben/overgripande-slu-dokument/popvet-dok/faktajordbruk/pdf03/Jo03-01_02.pdf [Använd 02 05 2013].
- Kemira, 2010. *Säkerhetsdatablad, ECOX*, u.o.: Kemira.
- Kemira, u.d. [Online] Tillgänglig:
<http://www.kemira.com/regions/sweden/se/aboutus/kemirakemi/paper/Pages/default.aspx> [Använd 17 april 2013].
- Lantbrukarnas Riksförbund, 2012. *Läkemedelsrester*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.lrf.se/Miljo/Avloppsslam/Fakta-om-slam1/Oonskade-amnen/Lakemedelsrester/> [Använd 15 06 2013].
- Lentner, C., Lentner, C. & Wink, A., 1981. *Geigy scientific tables*. Basle, Schweiz: Ciba-Geigy Limited.
- Lim, D. V., 1989. *Microbiology*. St Paul, USA: West publishing company.
- Ljunggren, R., 2013. *Naturvårdsverket*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.naturvardsverket.se/Stod-i-miljoarbetet/Vagledning-amnesvis/Avlopp/Avloppsslam/Anvandningsmojligheter-for-avloppsslam/>
[Använd 26 04 2013].
- Morner, M., 2010. Virus i människans tjänst. *Smittskydd*, p. 1.

- Müller, C., 2011. *Torrsubstans i grovfoder*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.hastsverige.se/sida350.html> [Använd 04-04-2013].
- Naturvårdsverket, 2000. *Vatten - Kemiparametrar*. [Online]
Tillgänglig: http://home.swipnet.se/skagern/v1_kemi.html [Använd 04-04-2013].
- Naturvårdsverket, 2002. *Naturvårdsverket*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.naturvardsverket.se/Documents/publikationer/620-5221-7.pdf> [Använd 14-04-2013].
- NMKL, 1996. *Nordic Committee on Food Analysis. Thermotolerant coliform bacteria and Escherichia coli*. 3rd red. u.o.:u.n.
- Nordin, A., 2010. *Ammonia sanitation of human excreta; treatment technology for production of fertiliser. Doktorsavhandling*. Uppsala: Sveriges Lantbruksuniversitet.
- Nordin, A., 2013. [Intervju] (15-05-2013).
- Ottoson, J., Nordin, A. & Vinnerås, B., 2008. Salmonella reduction in manure by the addition of urea and ammonia. *Bioresource Technology*, pp. 1610-1615.
- PAOH, 2006. *Coliphages, Information letter 44*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacg/e/cd-cagua/> [Använd 20-04-2013].
- Park, G. & Diez-Gonzalez, F., 2003. Utilization of carbonate and ammonia-based treatments to eliminate Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Typhimurium DT104 from cattle manure. *J Applied Microbiology*, pp. 675-685.
- Prescott, L., Harley, J. & Klein, D., 1996. *Microbiology*. 3:e red. Dubeque, USA: Brown Publishers.
- Regeringen, 2012. *Förslag till förordning*, u.o.: u.n.
- Rodriguez, C., 2012. *Degradation of pharmaceuticals in sewage sludge by Trametes versicolor*, Barcelona: University Autònoma de Barcelona.
- Rättsnätet, 2012. *Notisum*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.notisum.se/rnp/sls/lag/20010512.htm>
- Slanetz, L. W. & Bartley, C. H., 1957. Numbers of Enterococci in Water, Sewage, and Feaces determined by the Membrane Filter Technique with an improved medium. *Journal of bacteriology*, Volym 5, pp. 591-595.
- Smittskyddsinstitutet, 2010. *Sjukdomsinformation om E.coli i tarmen*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/escherichia-coli-infektioner-i-tarmen/> [Använd 04-04-2013].
- Smittskyddsinstitutet, 2011. *Sjukdomsinformation om vancomycinresistenta enterokocker (VRE)*. [Online]
Tillgänglig: <http://www.smittskyddsinstitutet.se/sjukdomar/vancomycinresistenta-enterokocker/> [Använd 04-04-2013].
- Stockholm vatten, 2010. [Online] Tillgänglig:
<http://www.stockholmvatten.se/Vattnetsvag/Avloppsvatten/Reningsverk/Processer/> [Använd 20-05-2013].
- Stockholm vatten, 2011. [Online]
Tillgänglig: <http://www.stockholmvatten.se/Om-oss/> [Använd 21-05-2013].
- Stockholm vatten, 2012. [Online]
Tillgänglig: <http://www.stockholmvatten.se/Vattnets-vag/Restprodukter/Slam/> [Använd 21-05-2013].
- Svenskt Vatten, 2009. *Svenskt vatten*. [Online]
Tillgänglig:
<http://www.svensktvatten.se/Documents/Kategorier/Avlopp%20och%20milj%C3%B6/REVAQ/REVAQ%20-%20Fr%C3%A5gor%20och%20svar.pdf> [Använd 15-09-2013].
- Svenskt vatten, 2013. *Slamanvändning och strategier för slamanvändning*, Solna: Svenskt vatten AB.
- Svenskt Vatten, S., 2010. *Avloppsteknik 3, Slamhantering*. Stockholm: Svenskt vatten AB.

- U.S Environmental Protection Agency, 2001. *Total, Fixed, and Volatile Solids*, Washington DC: u.n.
- Vetbact, 2012. *Odlingsmedia*. [Online]
Tillgänglig:
<http://www.vetbact.org/vetbact/?showgrowthmedia=1&PHPSESSID=7b35298cd6adc3cdae16b95fef5191bb> [Använd 04-04-2013].
- WHO, 2006. Volume 4: the use of excreta and greywater in agriculture.. i: *In Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater*. Geneva: World Health Organization.
- Vinnerås, B., 2001. *Faecal separation and urine diversion for nutriend management of household biodegradable waste and wastewater*, Uppsala: SLU.
- Vinnerås, B., 2013. *Hygieniseringsteknik för säker återföring av fosfor i kretsloppet*, Uppsala: Sveriges lantbruksuniversitet.
- Vinnerås, B., Clemens, J. & Winker, M., 2008. *Non-metallic contaminants in domestic waste, wastewater and manures: constraints to agricultural use.*, Cambridge: u.n.
- Vinnerås, B. o.a., 2003. The potential for disinfection of separated faecal matter by urea and by peracetic acid for hygienic nutrient recycling.. *Bioresour. Technology*, pp. 155-161.